

Metabolismo

Il metabolismo comprende tutte le reazioni che avvengono all'interno della cellula

Catabolismo

Le molecole più grandi e più complesse vengono ridotte in molecole più piccole e più semplici

prodotti di scarto

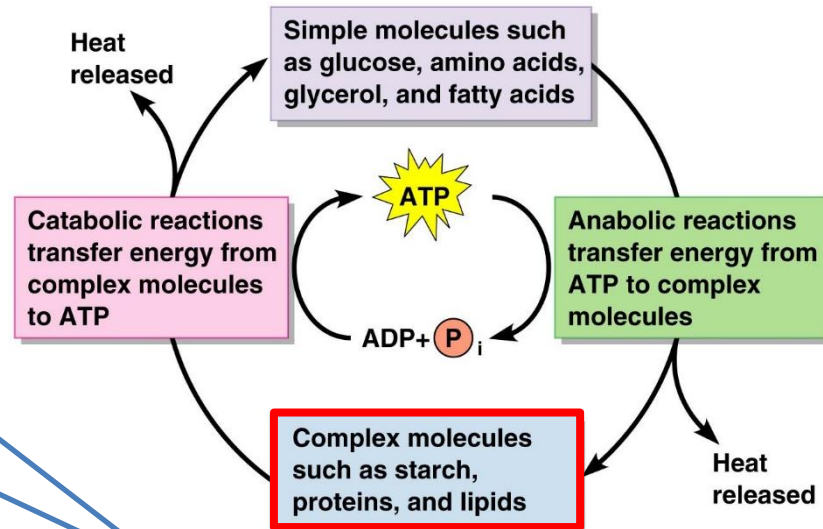


energia

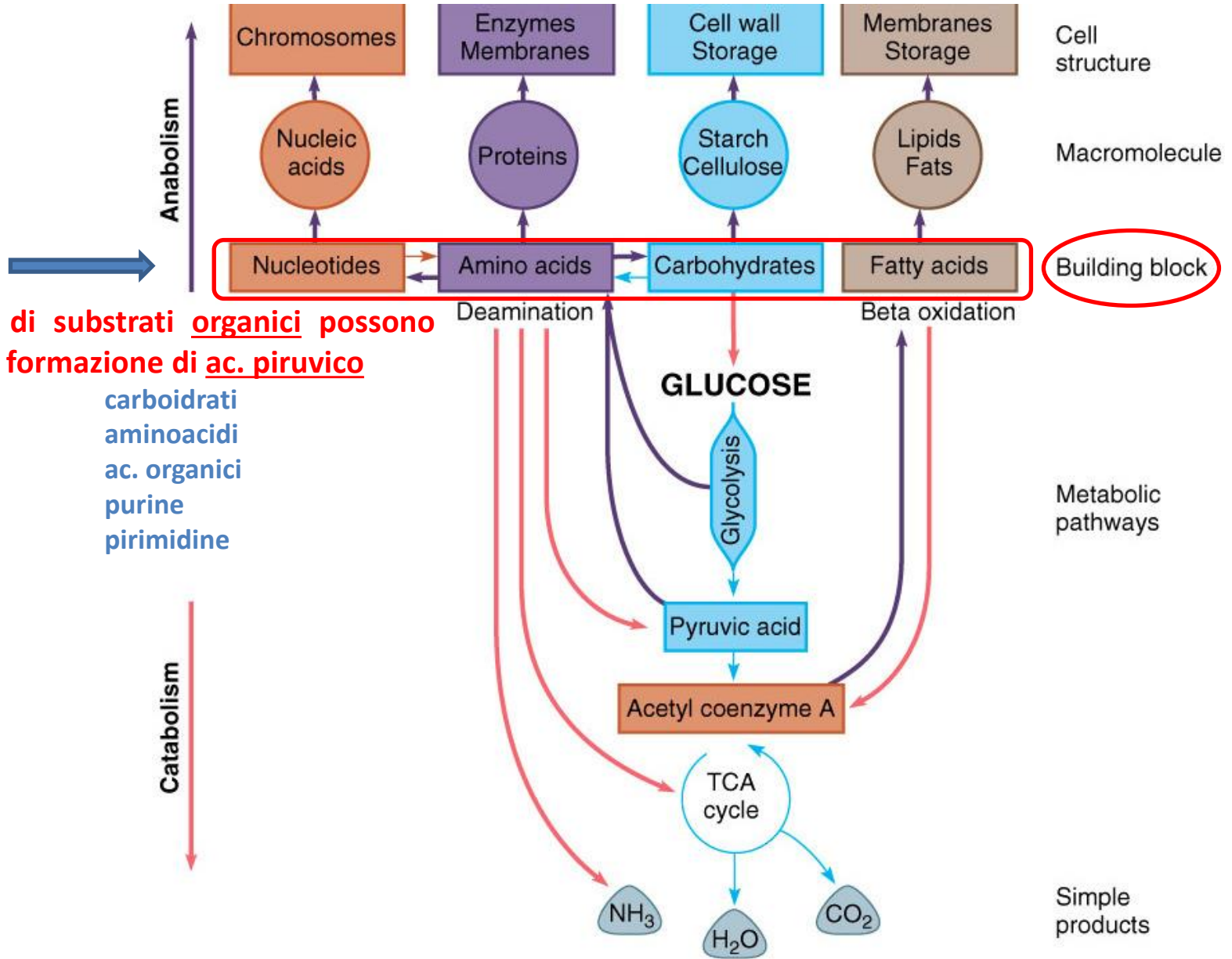
motilità,
trasporto di nutrienti
...

Anabolismo

Da molecole semplici, con apporto energetico, vengono sintetizzate molecole complesse (biosintesi).



Catabolismo ed anabolismo



diversi tipi di substrati organici possono portare alla formazione di ac. piruvico

- carboidrati
- aminoacidi
- ac. organici
- purine
- pirimidine

catabolismo

donatori di e⁻ (nutrienti)

Accettori di e⁻

Fermentazione

Accettore organico endogeno di elettroni

- Processo ossidativo in cui il donatore e l'accettore di elettroni sono **composti organici**, che spesso derivano dallo stesso substrato fermentabile.
- **Non è richiesto O₂**.
- Possono essere assenti il ciclo di Krebs e la catena di trasporto degli elettroni.
- **Parziale ossidazione → parziale liberazione di energia**
- **Bassa resa energetica**

Respirazione aerobica

O₂

Respirazione anaerobica

NO₃²⁻ (nitrato)

SO₄²⁻ (solfato)

CO₂ (anidride carbonica)

Fe³⁺ (ione ferrico)

Mn⁴⁺ (ione manganico)

SeO₄²⁻ (selenato)

AsO₄³⁻ (arsenato)

UO₂²⁺ (ione uranile)

Fumarato

Trimethylamine N-oxide (TMAO)

DMSO (Dimethyl sulfoxide)

...

Anaerobic: Without oxygen; especially of an environment or organism.

Reduction: A reaction in which electrons are gained and valence is reduced; often by the removal of oxygen or the addition of hydrogen.

Anaerobic respiration: metabolic reactions and processes that take place in the cells of organisms that use electron acceptors other than oxygen. Anaerobic respiration is the formation of ATP without oxygen. This method still incorporates the respiratory electron transport chain, but without using oxygen as the terminal electron acceptor. Instead, molecules such as sulfate (SO_4^{2-}), nitrate (NO_3^-), or sulfur (S) are used as electron acceptors. These molecules have a lower reduction potential than oxygen; thus, less energy is formed per molecule of glucose in anaerobic versus aerobic conditions.

Anaerobic Respiration: A molecule other than oxygen is used as the terminal electron acceptor in anaerobic respiration.

Many different types of electron acceptors may be used for anaerobic respiration. Denitrification is the utilization of nitrate (NO_3^-) as the terminal electron acceptor. Nitrate, like oxygen, has a high reduction potential. This process is widespread, and used by many members of *Proteobacteria*. Many denitrifying bacteria can also use ferric iron (Fe^{3+}) and different organic electron acceptors.

Sulfate reduction uses sulfate (SO_4^{2-}) as the electron acceptor, producing hydrogen sulfide (H_2S) as a metabolic end product. Sulfate reduction is a relatively energetically poor process, and is used by many Gram negative bacteria found within the δ -*Proteobacteria*. It is also used in Gram positive organisms related to *Desulfotomaculum* or the archaeon *Archaeoglobus*.

Sulfate reduction requires the use of electron donors, such as the carbon compounds lactate and pyruvate (organotrophic reducers), or hydrogen gas (lithotrophic reducers). Some unusual autotrophic sulfate-reducing bacteria, such as *Desulfotignum phosphitoxidans*, can use phosphite (HPO_3^-) as an electron donor. Others, such as certain *Desulfovibrio* species, are capable of sulfur disproportionation (splitting one compound into an electron donor and an electron acceptor) using elemental sulfur (S^0), sulfite (SO_3^{2-}), and thiosulfate ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) to produce both hydrogen sulfide (H_2S) and sulfate (SO_4^{2-}).

Acetogenesis is a type of microbial metabolism that uses hydrogen (H_2) as an electron donor and carbon dioxide (CO_2) as an electron acceptor to produce acetate, the same electron donors and acceptors used in methanogenesis.

Ferric iron (Fe^{3+}) is a widespread anaerobic terminal electron acceptor used by both autotrophic and heterotrophic organisms. Electron flow in these organisms is similar to those in electron transport, ending in oxygen or nitrate, except that in ferric iron-reducing organisms the final enzyme in this system is a ferric iron reductase. Since some ferric iron-reducing bacteria (e.g. *G. metallireducens*) can use toxic hydrocarbons (e.g. toluene) as a carbon source, there is significant interest in using these organisms as bioremediation agents in ferric iron contaminated aquifers.

Other inorganic electron acceptors include the reduction of Manganic ion (Mn^{4+}) to manganous (Mn^{2+}), Selenate (SeO_4^{2-}) to selenite (SeO_3^{2-}) to selenium (Se), Arsenate (AsO_4^{3-}) to arsenite (AsO_3^{3-}), and Uranyl (UO_2^{2+}) to uranium dioxide (UO_2)

Organic compounds may also be used as electron acceptors in anaerobic respiration. These include the reduction of fumarate to succinate, Trimethylamine N-oxide (TMAO) to trimethylamine (TMA), and Dimethyl sulfoxide (DMSO) to Dimethyl sulfide (DMS).

Diversità metabolica

Tutti i procarioti hanno un meccanismo simile per la conservazione dell'energia

Generazione di un **gradiente protonico** attraverso la membrana



produzione di ATP

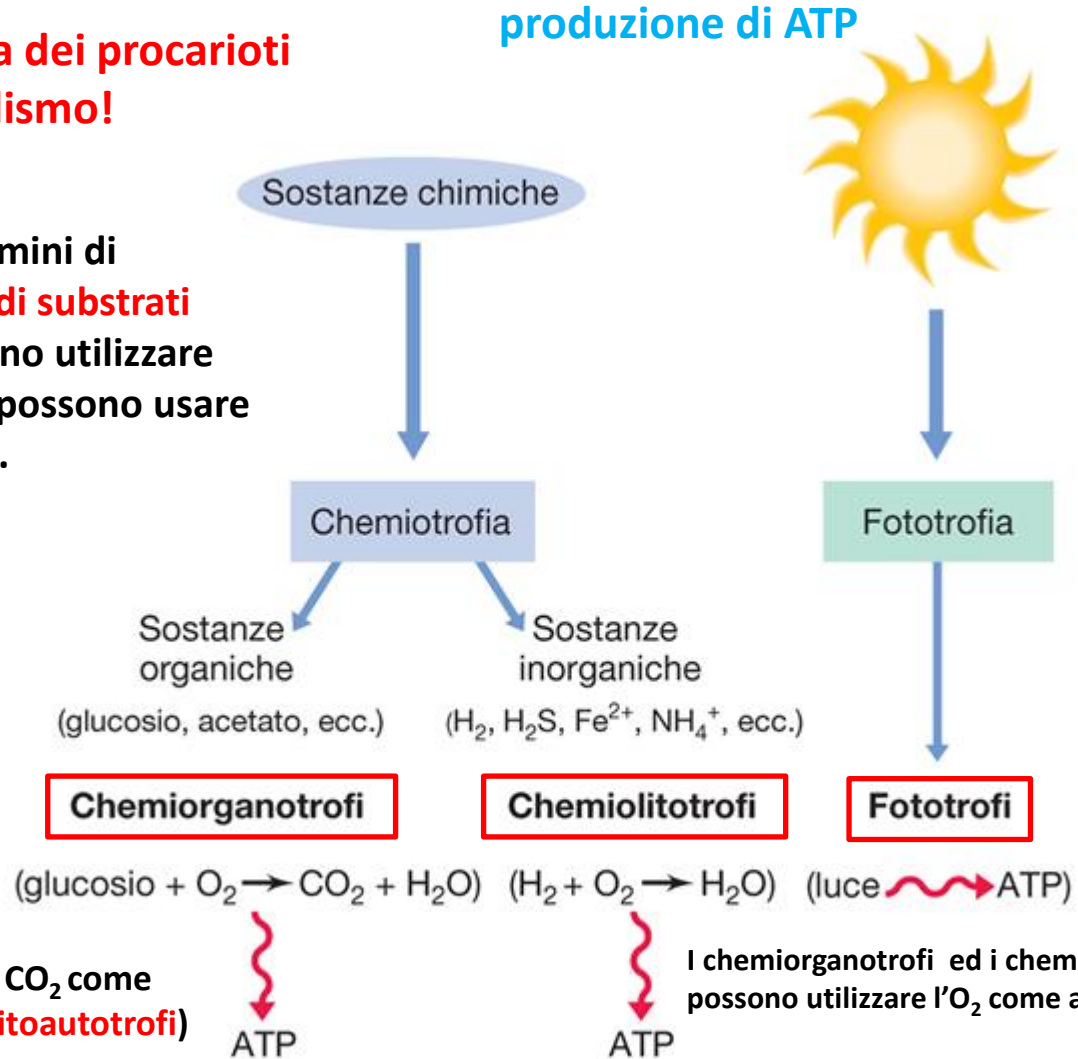
La versatilità metabolica dei procarioti risiede nel loro metabolismo!

Essi differiscono molto in termini di

- **fonti di energia** e **varietà di substrati** (donatori di e^-) che possono utilizzare
- **accettori di elettroni** che possono usare per ossidare tali substrati.

I **chemiorganotrofi**, di solito, utilizzano lo stesso substrato anche come fonte di C (**chemioeterotrofi**)

I **chemiolitotrofi**, in genere, utilizzano CO_2 come fonte di C (**chemioautotrofi** o **chemiolitoautotrofi**)

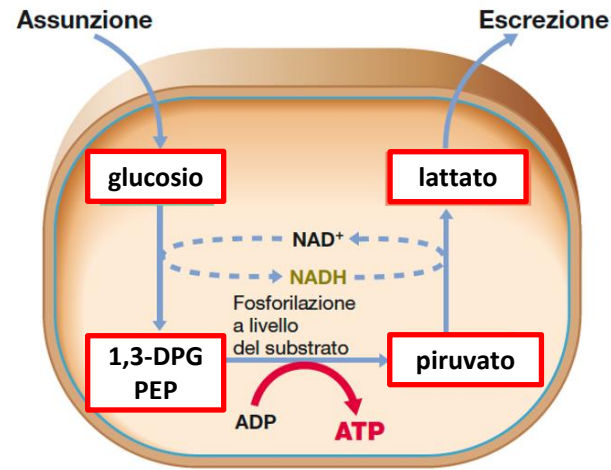


I chemiorganotrofi ed i chemiolitotrofi possono utilizzare l' O_2 come accettore di e^- .

Metabolismi chemiotrofici possono essere suddivisi in **fermentazione** e **respirazione**

Fermentazione

- L'energia metabolica deriva da una parziale ossidazione di un substrato organico.
- Per mantenere l'equilibrio redox, la cellula trasferisce gli e⁻ ad un'altra molecola organica più ossidata con rilascio di una molecola ridotta (scarto).
- L'accettore di e⁻ di solito deriva dallo stesso substrato (piruvato ← glucosio).
- Non è richiesta la presenza di ossigeno o altri accettori di e⁻ esterni.
- La produzione di ATP avviene mediante fosforilazione a livello del substrato.
- Non è richiesta la catena di trasporto degli e⁻.
- Possono essere utilizzati molti substrati (zuccheri, aminoacidi, ac. organici, basi azotate, composti aromatici).
- La maggior parte del substrato viene utilizzata per ricavare energia.
- Per ricavare sufficiente ATP per la crescita, la cellula deve utilizzare grandi quantità di substrato.
- Solo una piccola parte del substrato viene impiegato per le biosintesi.



Respirazione (aerobica o anaerobica)

- I composti organici possono essere ossidati completamente.
- Gli e⁻ vengono trasferiti all'accettore finale (una molecola inorganica o, in alcuni casi, una molecola organica) attraverso la catena di trasporto degli e⁻.
- La produzione di ATP avviene mediante fosforilazione ossidativa.

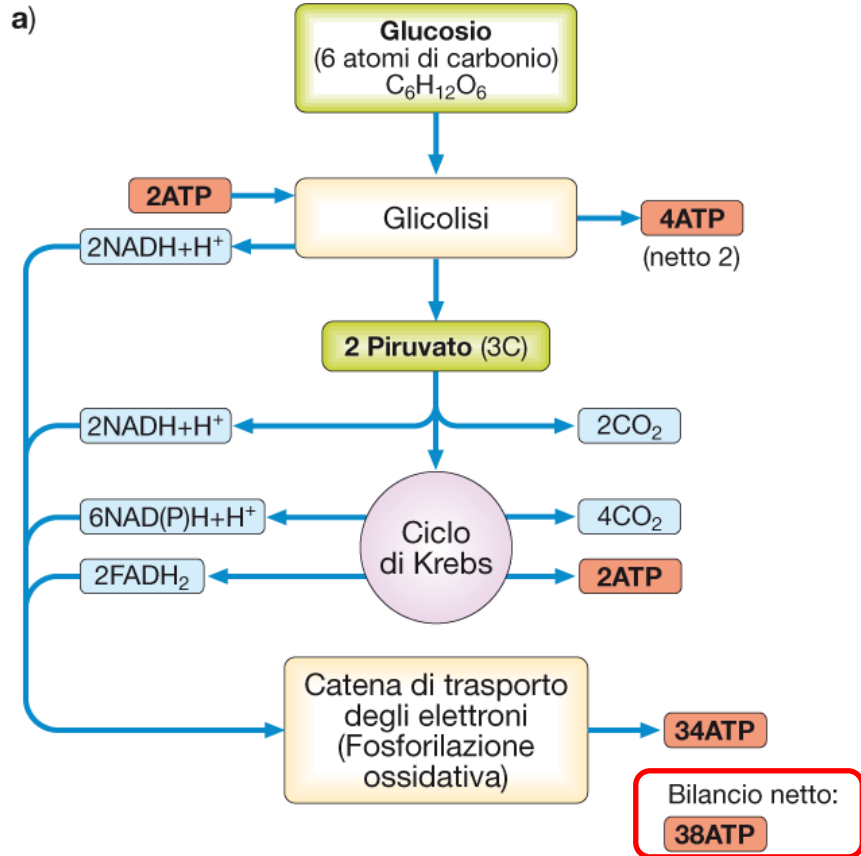
Esistono microrganismi che ricavano energia esclusivamente da processi fermentativi (batteri lattici), altri che sfruttano sia i processi fermentativi che respiratori (*E. coli*).

In ambienti anossici ed in assenza di accettori di e⁻ di natura inorganica (SO₄²⁻, NO₃⁻, Fe³⁺, CO₂, ...), i microrganismi possono decomporre la sostanza organica attraverso processi fermentativi.

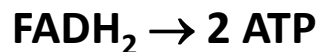
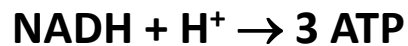
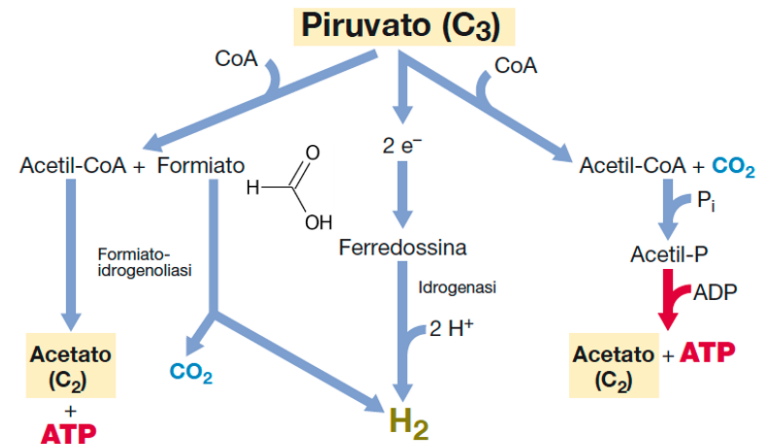
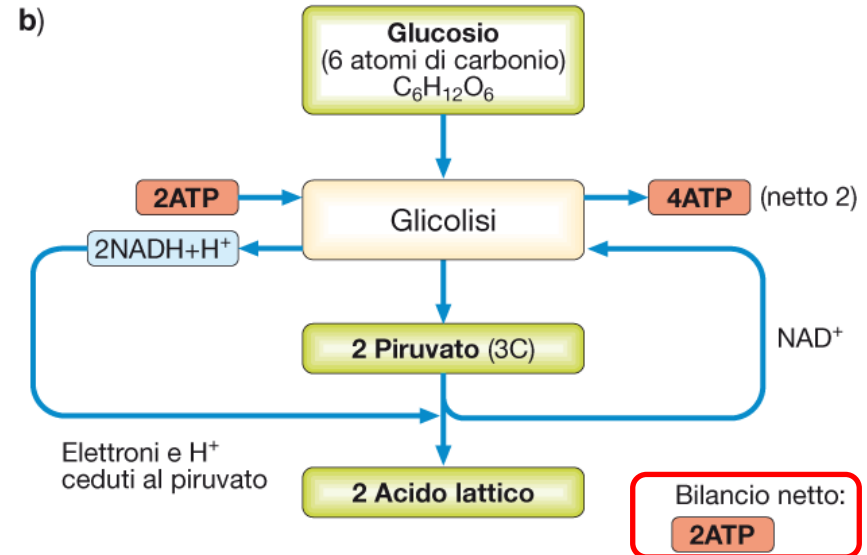
Non tutti i microrganismi chemiotrofi attuano metabolismi energetici ben definiti!

Resa energetica

processi respiratori



processi fermentativi



In alcune fermentazioni si ha la formazione di H₂. Dalla produzione di alcuni acidi grassi si possono formare derivati del CoA che portano alla formazione di ATP.

Metabolismi fermentativi → Esistono molti tipi di fermentazioni classificate in base al substrato al prodotto formato

Molte fermentazioni hanno come intermedio comune l'ac. Piruvico



- f. lattica
- f. alcolica
- f. acido mista
- f. 2,3-butandiolica
- f. propionica
- f. aceton-butanolica
- f. butirrica

Esistono diverse vie metaboliche che convertono gli zuccheri in ac. piruvico

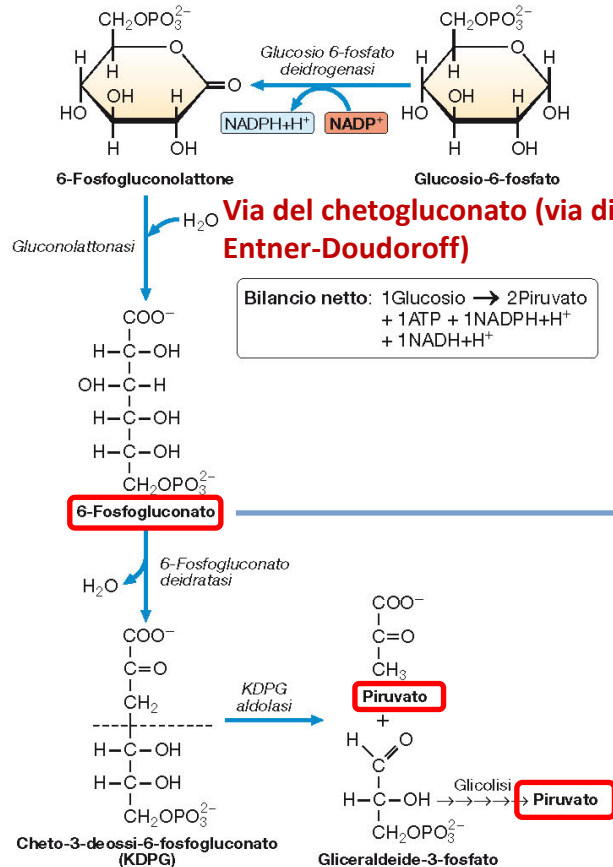
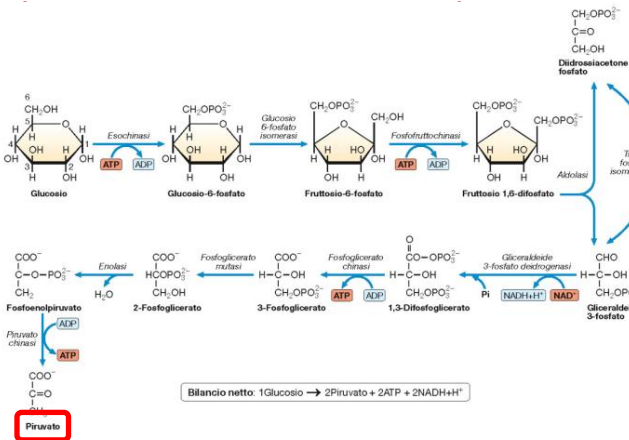
Glicolisi (via di Embden-Meyerhof-Parnas)

Via del chetogluconato (via di Entner-Doudoroff)

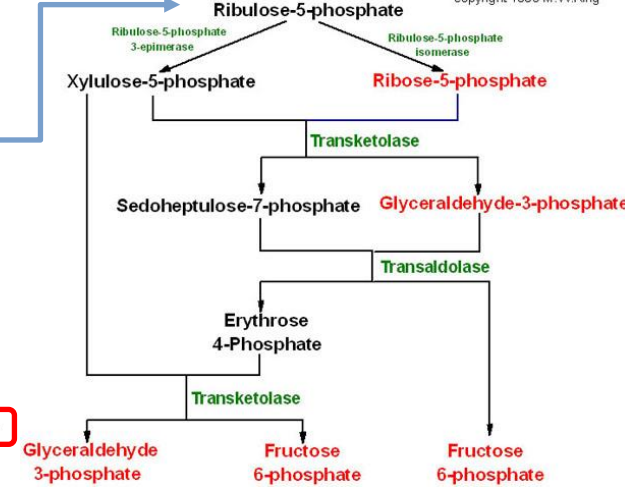
Ciclo ossidativo dei pentoso fosfati (via dell'esoso monofosfato)

Alcune vie metaboliche, oltre che per fini energetici, sono importanti per il rifornimento di precursori per le biosintesi.

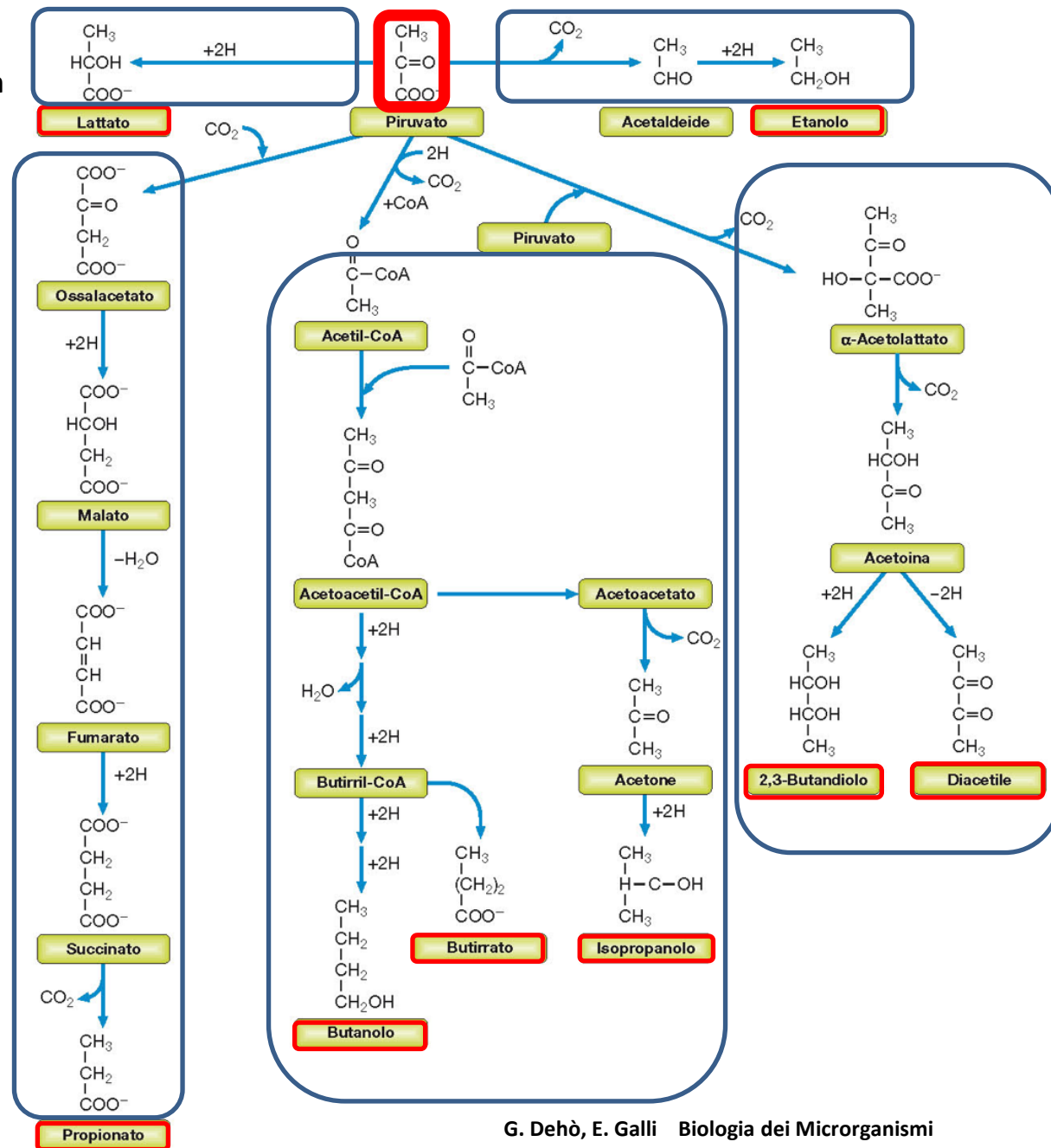
Glicolisi



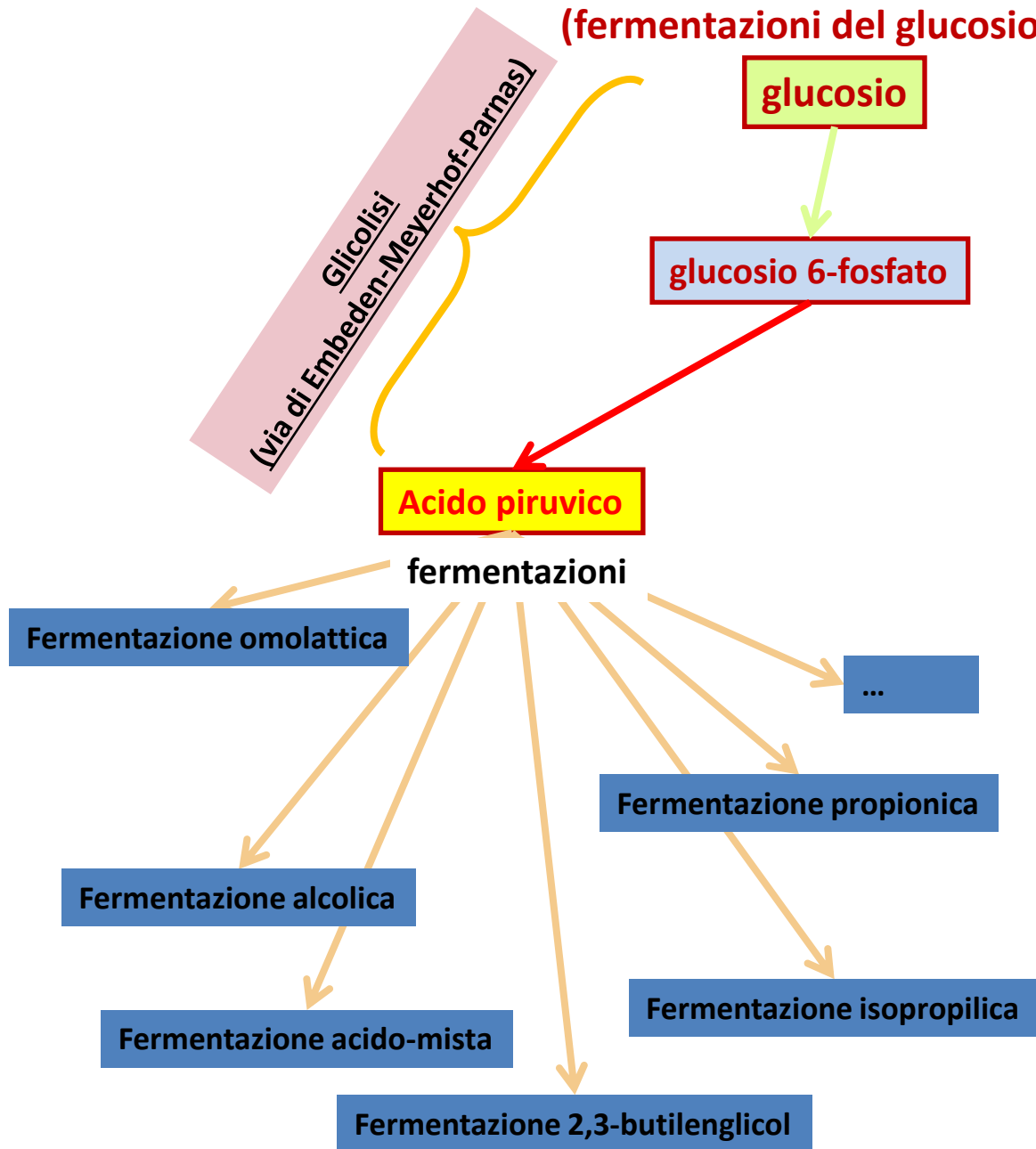
Non-Oxidative Stage of Pentose Phosphate Pathway



Dopo la formazione, l'**ac. piruvico** può essere **ridotto** secondo percorsi diversi, in funzione dei diversi microrganismi (batteri, alghe, lieviti, protozoi)



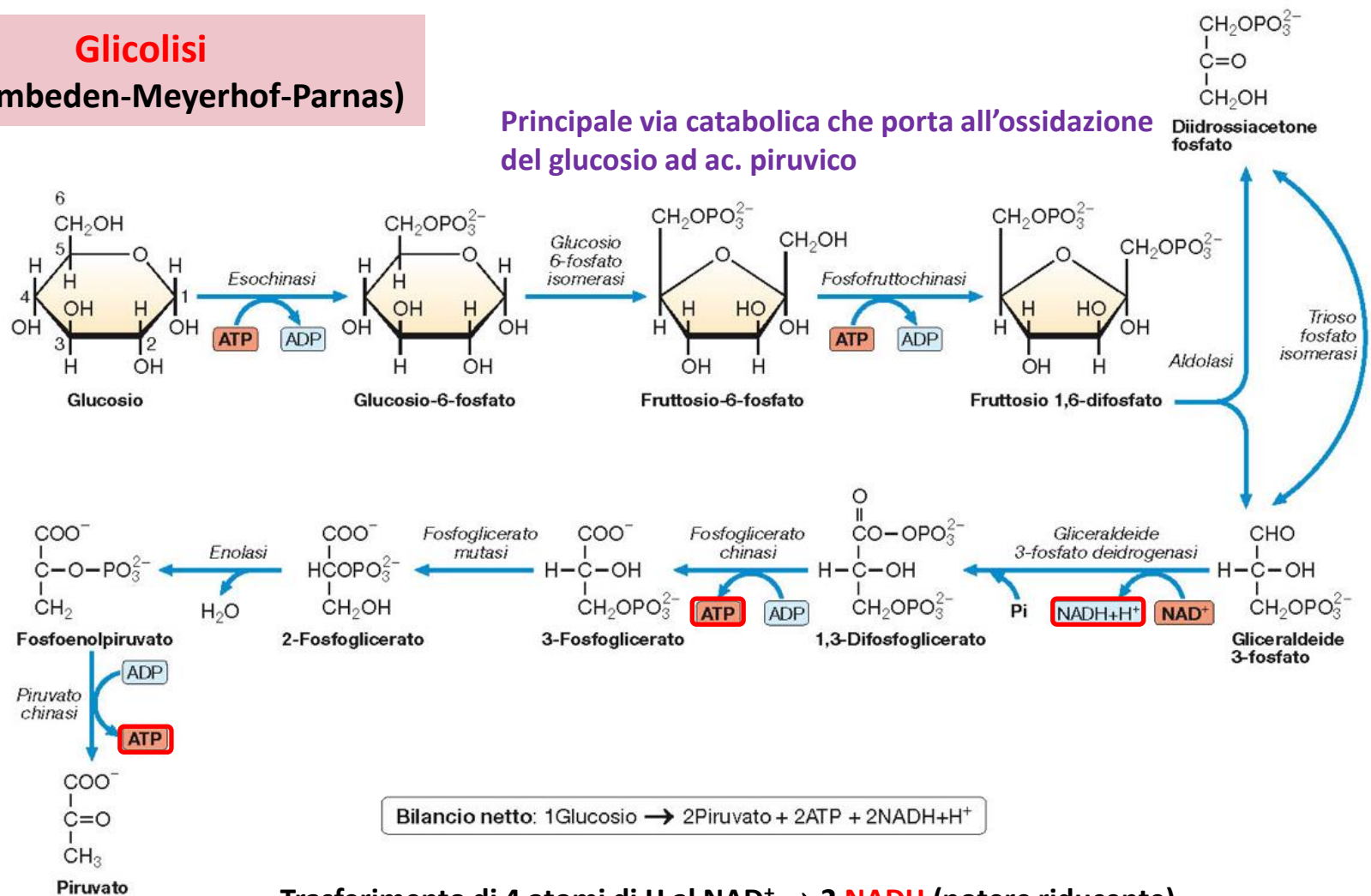
Metabolismi fermentativi → Esistono diversi tipi di fermentazioni
(fermentazioni del glucosio)



Glicolisi

(via di Embeden-Meyerhof-Parnas)

Principale via catabolica che porta all'ossidazione del glucosio ad ac. piruvico



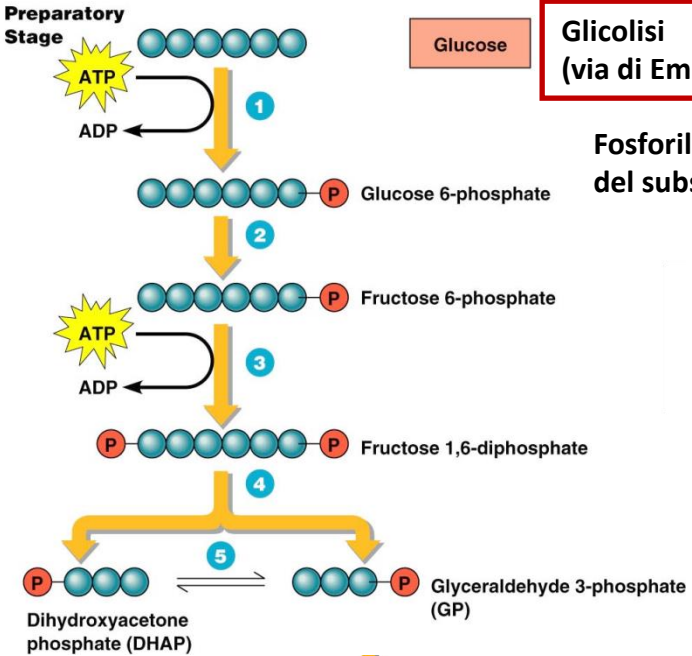
Trasferimento di 4 atomi di H al NAD⁺ → 2 NADH (potere riducente)

Formazione di 4 ATP (fosforilazione a livello del substrato)

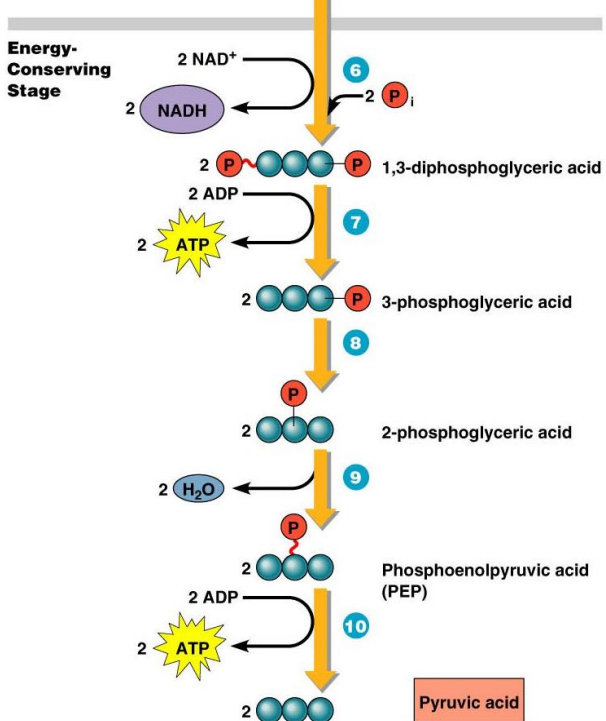
Formazione ac. piruvico

Produzione di alcuni precursori essenziali per le biosintesi

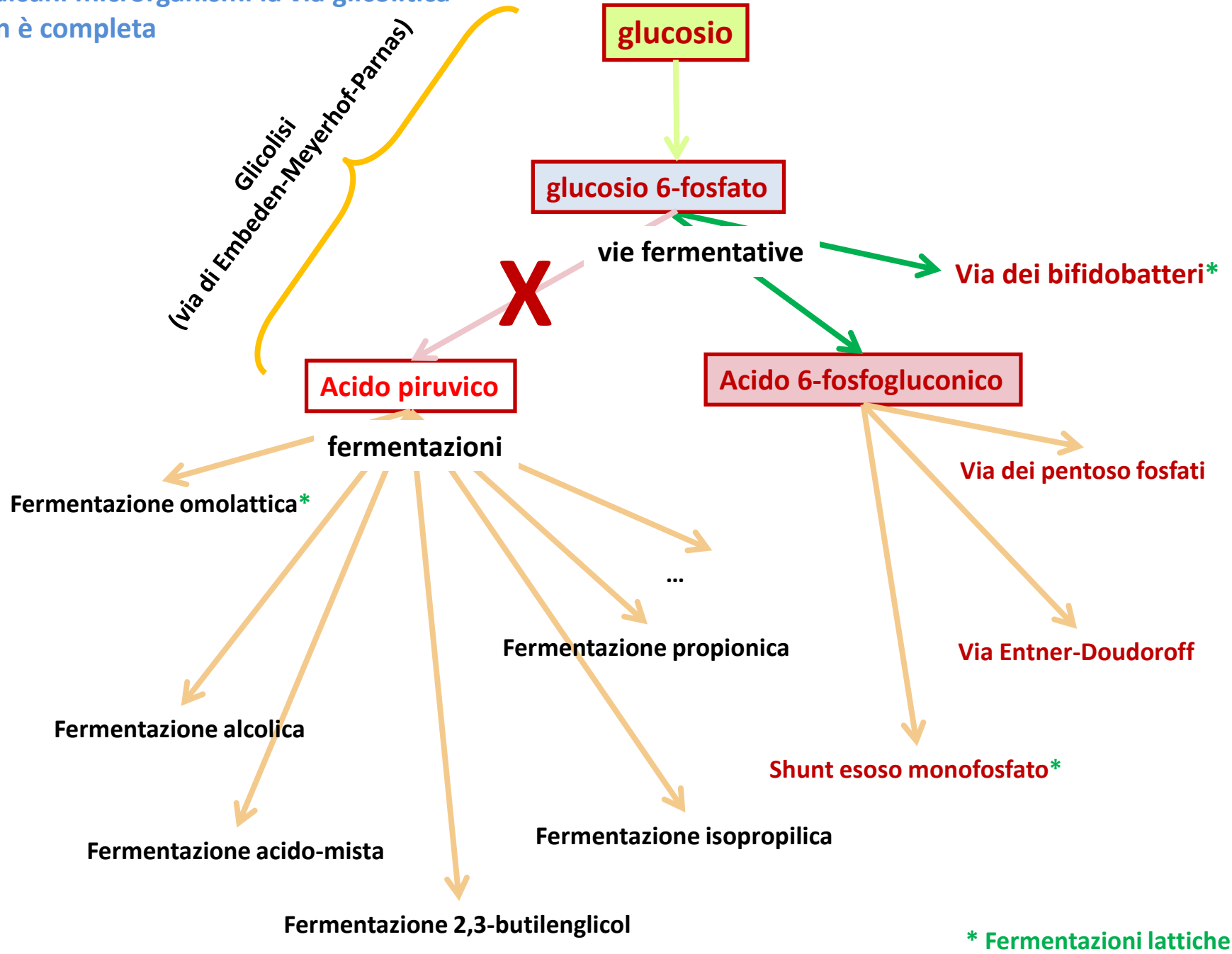
Glicolisi (via di Embden-Meyerhof)



Fosforilazione a livello del substrato

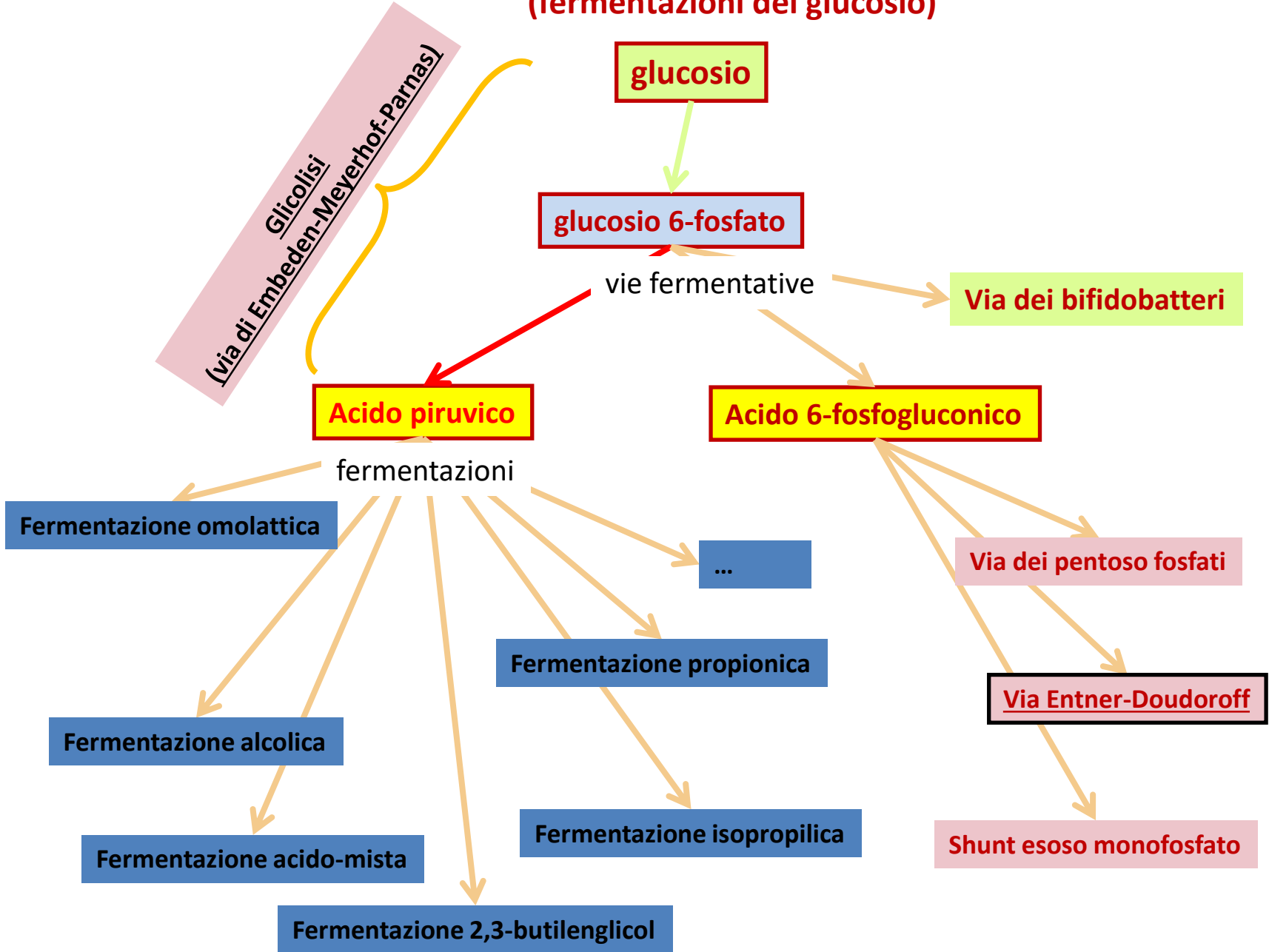


In alcuni microrganismi la via glicolitica non è completa



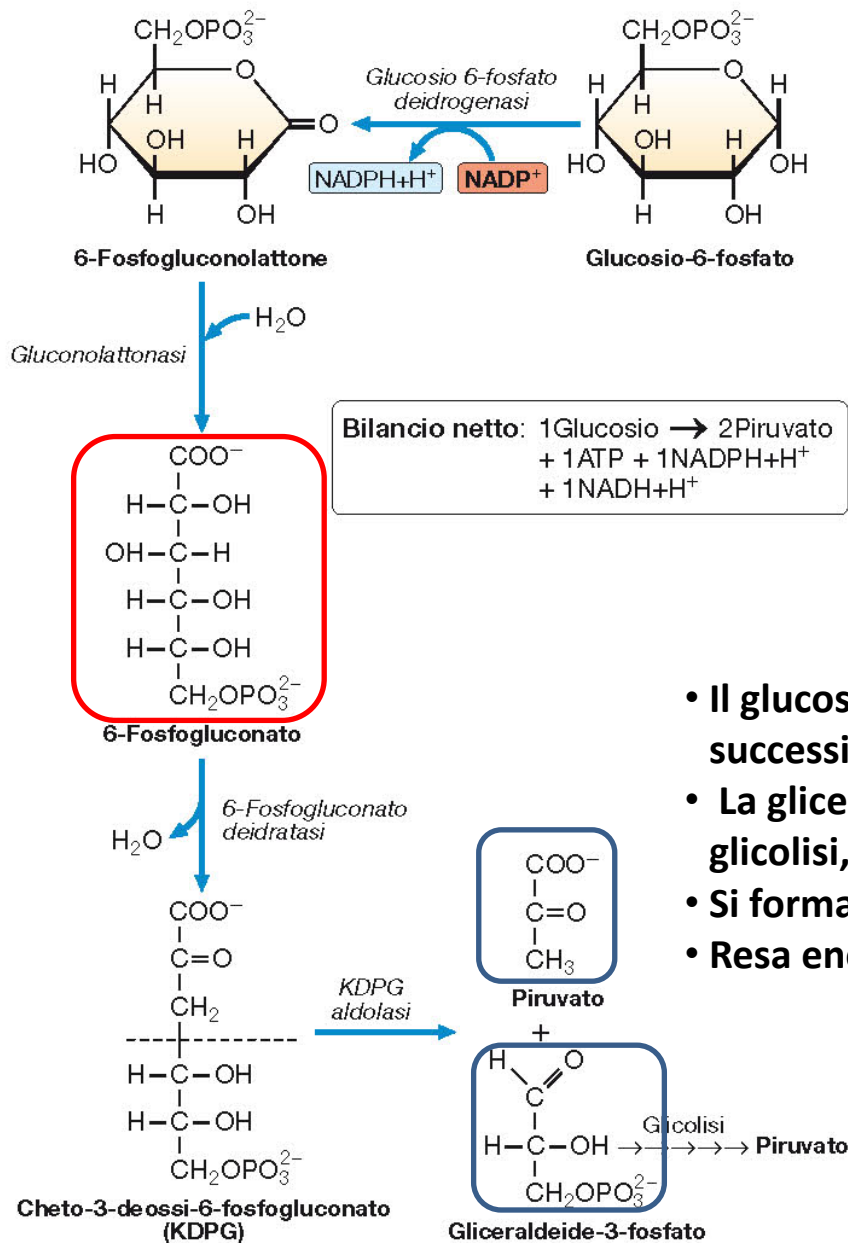
* Fermentazioni lattiche

Metabolismi fermentativi → **Esistono diversi tipi di fermentazioni (fermentazioni del glucosio)**



Via Entner-Doudoroff (Via del chetogluconato)

Zymomonas
Pseudomonas
Rhizobium
Agrobacterium
Alcaligenes
E. coli



In diversi batteri G^- ed alcuni *Archaea* la via di Entner-Doudoroff sostituisce la via glicolitica, mentre in altri (*Pseudomonas*) le due vie possono coesistere. Nel secondo caso questa via può funzionare da collettore di metaboliti di altre vie metaboliche.

- Il glucosio-6-fosfato viene ossidato a **6-fosfogluconato** con successiva produzione di **ac. piruvico** e **gliceraldeide-3-fosfato**.
- La gliceraldeide-3-fosfato, attraverso alcuni enzimi della glicolisi, può essere trasformata in ac. piruvico.
- Si formano 1 molecola di **NADPH** ed 1 di **NADH**.
- Resa energetica molto bassa
quante molecole di ATP?

1 molecola di ATP x 1 molecola di glucosio fermentato.

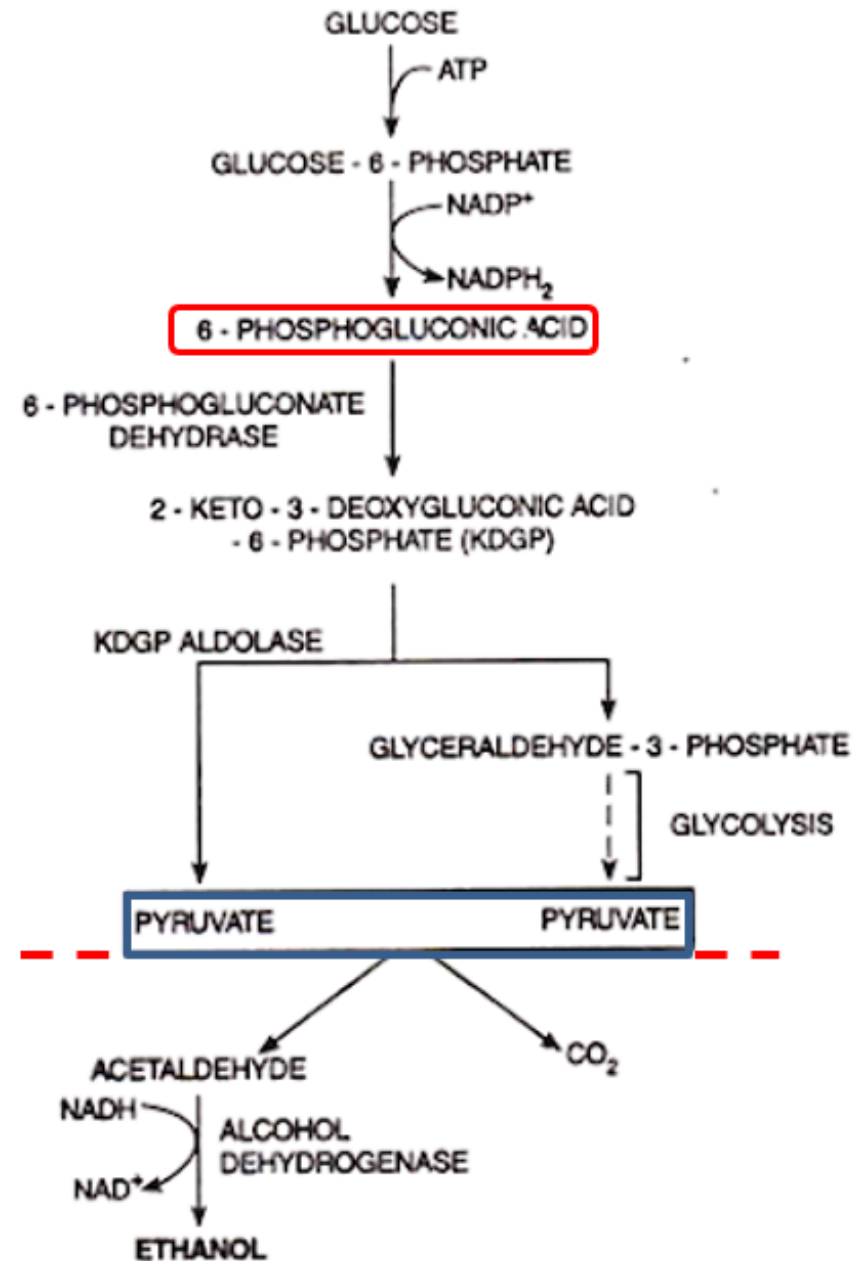
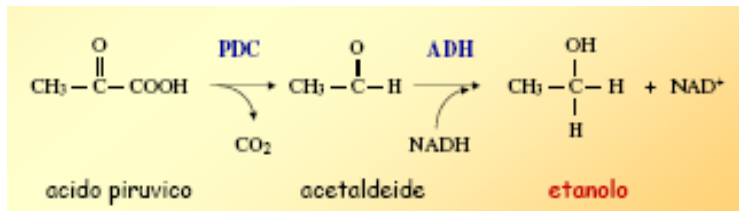
Via di Entner-Doudoroff

(Via del chetogluconato)

Zymomonas mobilis (fermentante obbligato)

utilizza esclusivamente questa via per la fermentazione del glucosio con produzione di ac. piruvico.

Successivamente si ha formazione di etanolo e CO₂.



Fermentazioni del glucosio

glucosio

glucosio 6-fosfato

Glicolisi
(via di Embeden-Meyerhof-Parnas)

vie fermentative

Via dei bifidobatteri*

2 ATP

Acido piruvico

Acido 6-fosfogluconico

Via dei pentoso fosfati

fermentazioni

Via Entner-Doudoroff

Fermentazione omolattica*

...

Fermentazione propionica

Shunt esoso monofosfato*

Fermentazione alcolica

Fermentazione acido-mista

Fermentazione isopropilica

Fermentazione 2,3-butilenglicol

Via dei pentoso fosfati

Molti batteri, indipendentemente che usino la glicolisi o la via di Entner-Doudoroff, contengono alcuni o tutti gli enzimi del **ciclo dei pentosi fosfati (shunt esoso monofosfato)**.

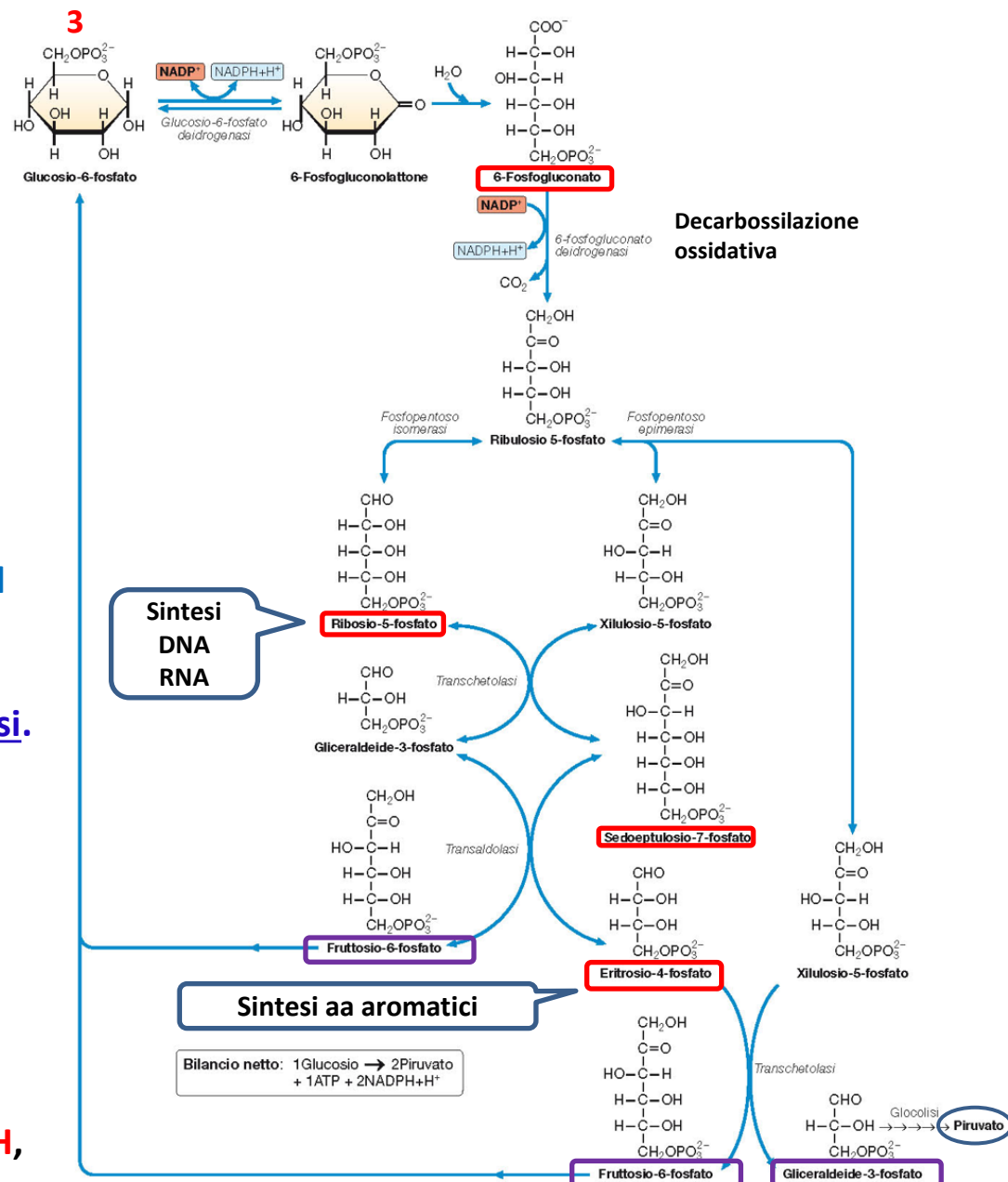
Solo alcuni batteri utilizzano questo ciclo per fini energetici.

Importanza del ciclo dei pentoso fosfati:

- **Formazione di precursori importanti per le biosintesi (sedoeptulosio-7-P, ribosio-5-P ed eritrosio-4-P).**
- **Produzione di NADPH.**
- **Sintesi di zuccheri che riforniscono la glicolisi.**

Lungo questa via non si forma ac. piruvico, tuttavia gli enzimi della glicolisi possono produrlo dalla gliceraldeide-3-P con formazione di ATP.

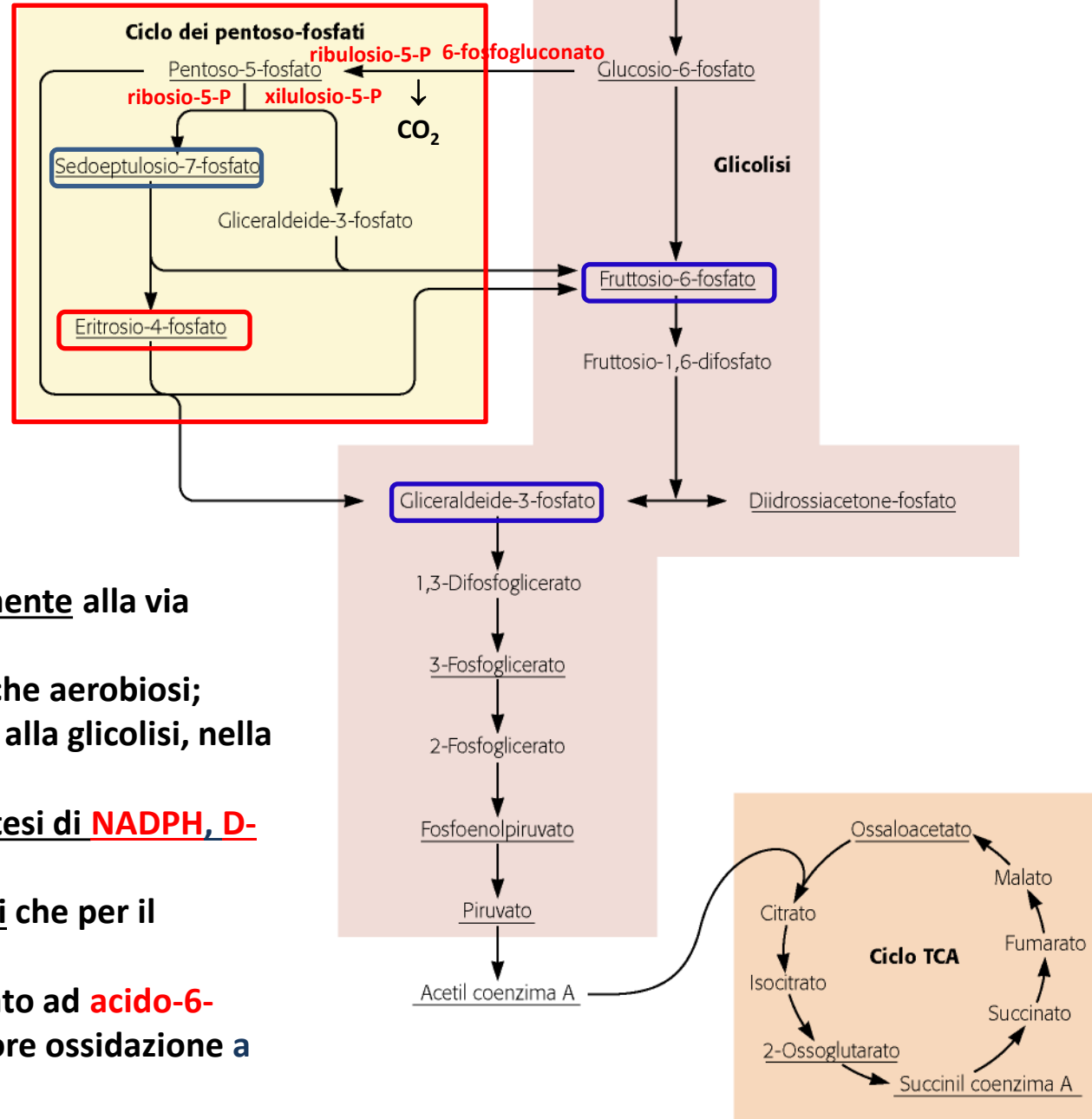
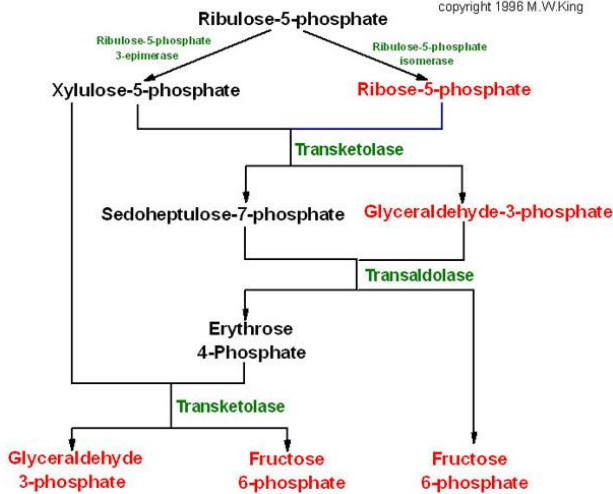
Non si ha formazione di NADH ma di **NADPH**, che viene utilizzato soprattutto nei processi biosintetici.



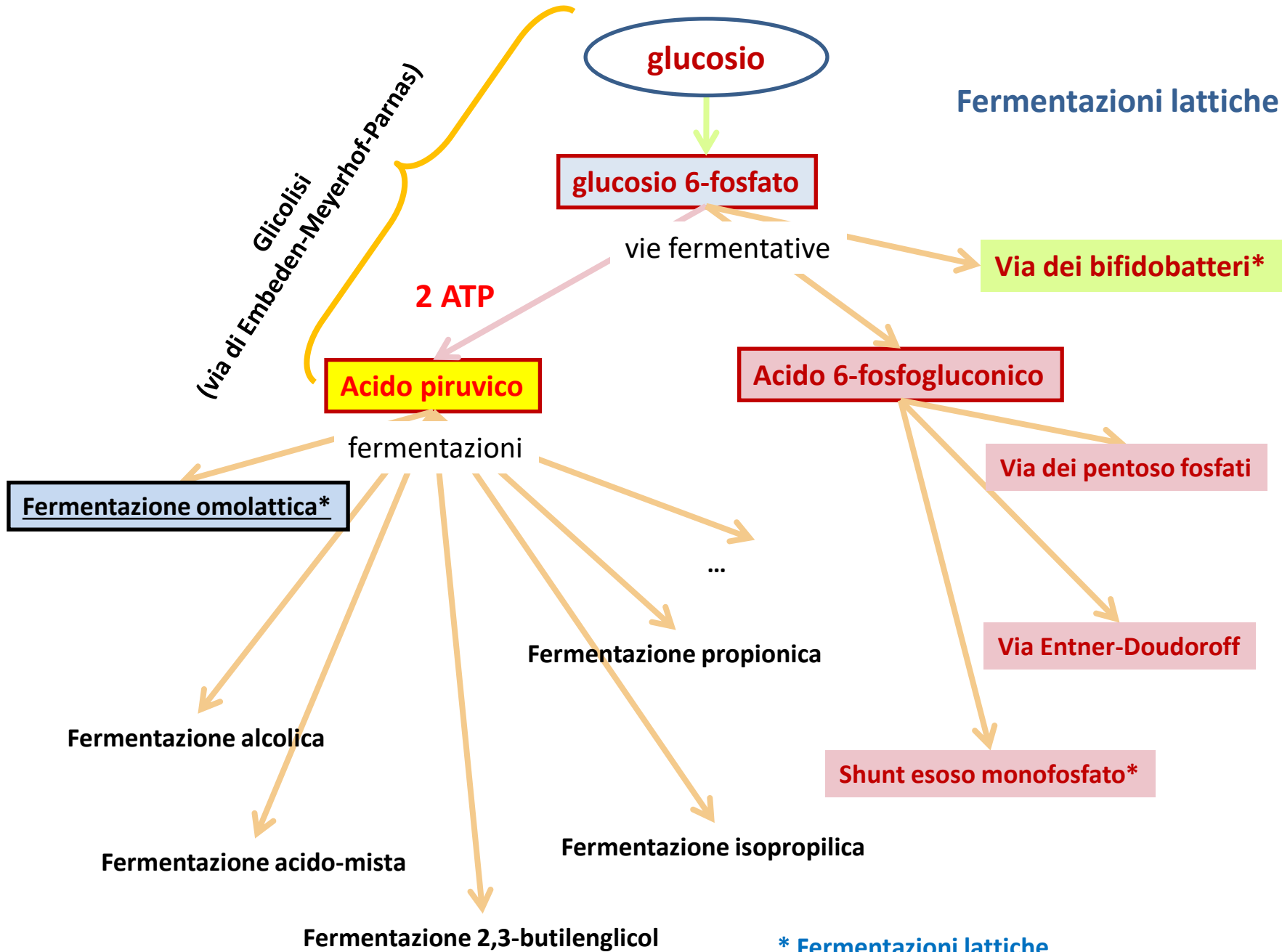
Via dei pentoso fosfati

Non-Oxidative Stage of Pentose Phosphate Pathway

copyright 1996 M.W.King



- può decorrere contemporaneamente alla via glicolitica;
- può operare sia in anaerobiosi che aerobiosi;
- ha un ruolo secondario, rispetto alla glicolisi, nella produzione di ATP;
- ha un ruolo principale per la sintesi di **NADPH**, **D-ribosio-5-P** ed **eritrosio-4-P**;
- è importante sia per le biosintesi che per il catabolismo;
- il glucosio-6-fosfato viene ossidato ad **acido-6-fosfogluconico** seguito da ulteriore ossidazione a **ribulosio 5-fosfato** e **CO₂**;
- si ha produzione di **NADPH**.



Fermentazioni lattiche

*** Fermentazioni lattiche**
 I batteri lattici hanno un metabolismo fermentativo: sono anaerobi-aerotolleranti.

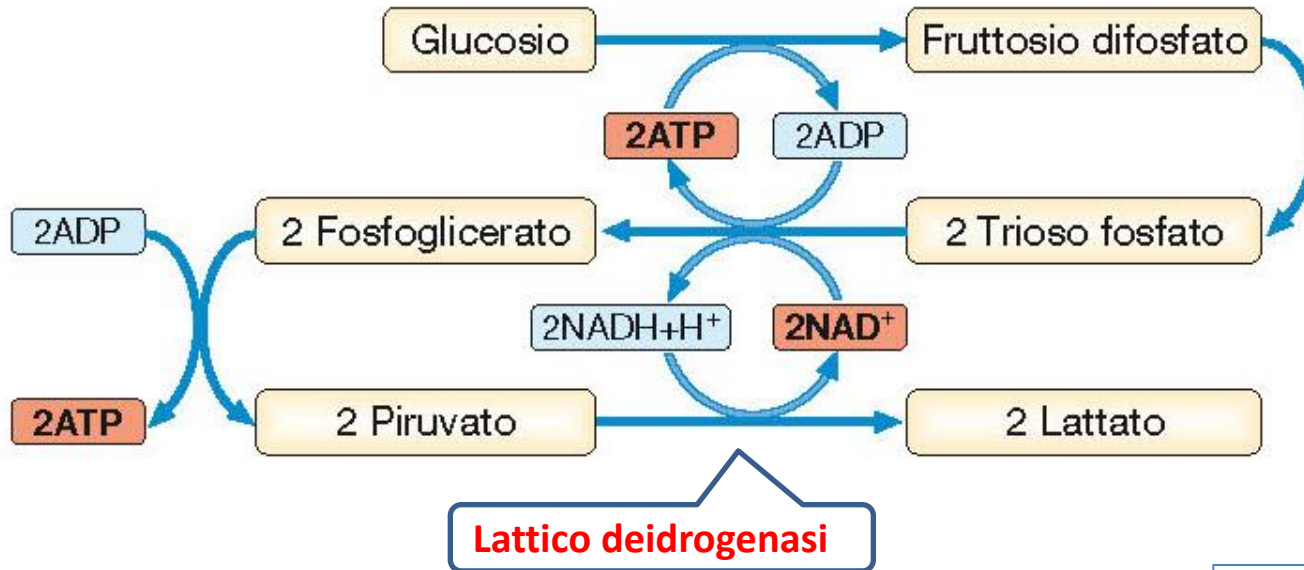
Fermentazione omolattica

Lactobacillus
Streptococcus faecalis
Pediococcus

...

I **batteri lattici omo-fermentanti** (possiedono l'enzima aldolasi) da 1 molecola di glucosio, attraverso la glicolisi, producono:

2 molecole di piruvato
2 molecole di ATP
2 molecole di NADH



A differenza degli etero-fermentanti, gli omo-fermentanti non producono CO₂.

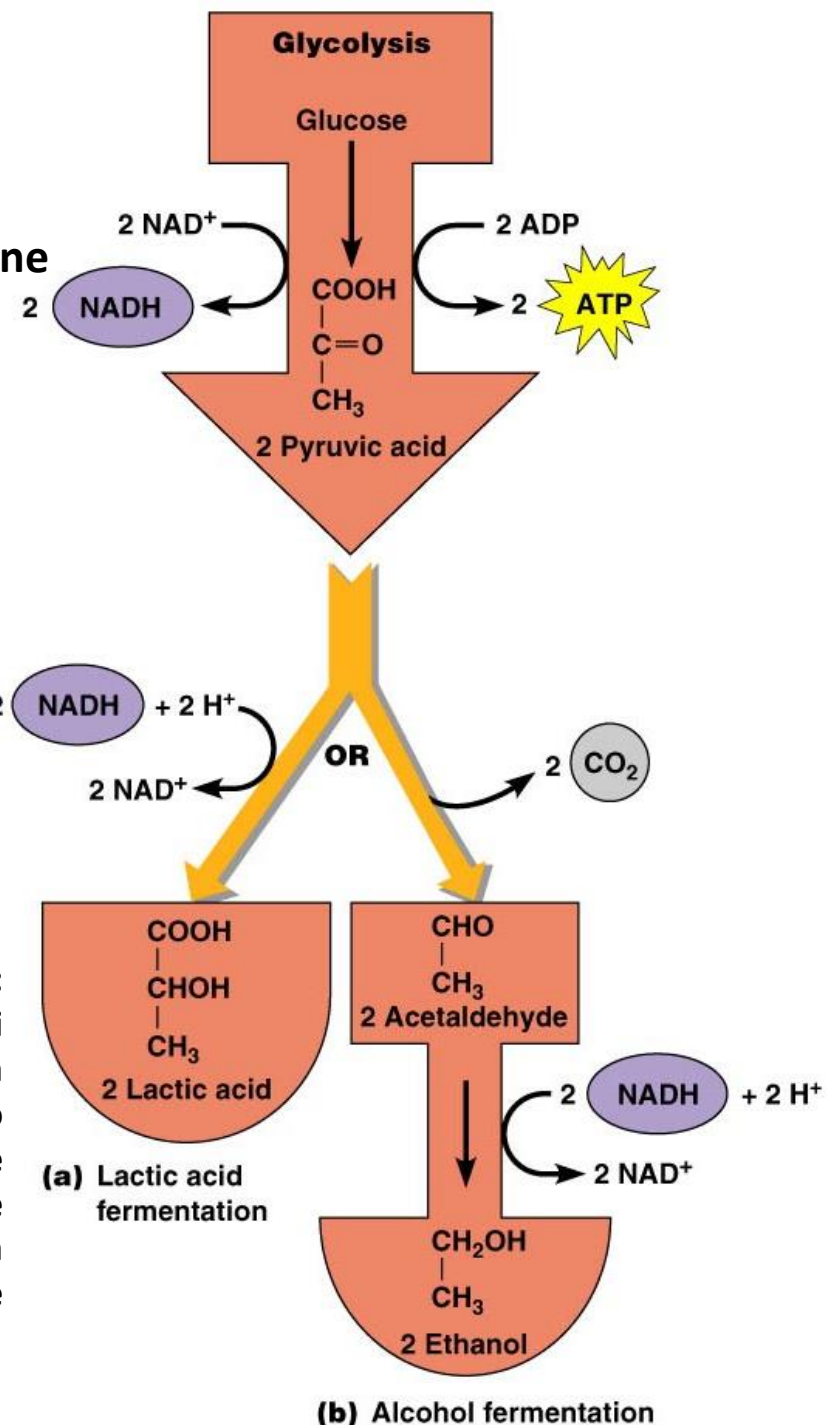
Carbonio del substrato
(glucosio)

>90% prodotto finale
(ac. lattico)

~5% biomassa

Fermentazione omolattica

La riduzione dell'acido piruvico, mediante riossidazione dell'**NADH**, porta alla formazione solo di **acido lattico**.



Lattico deidrogenasi

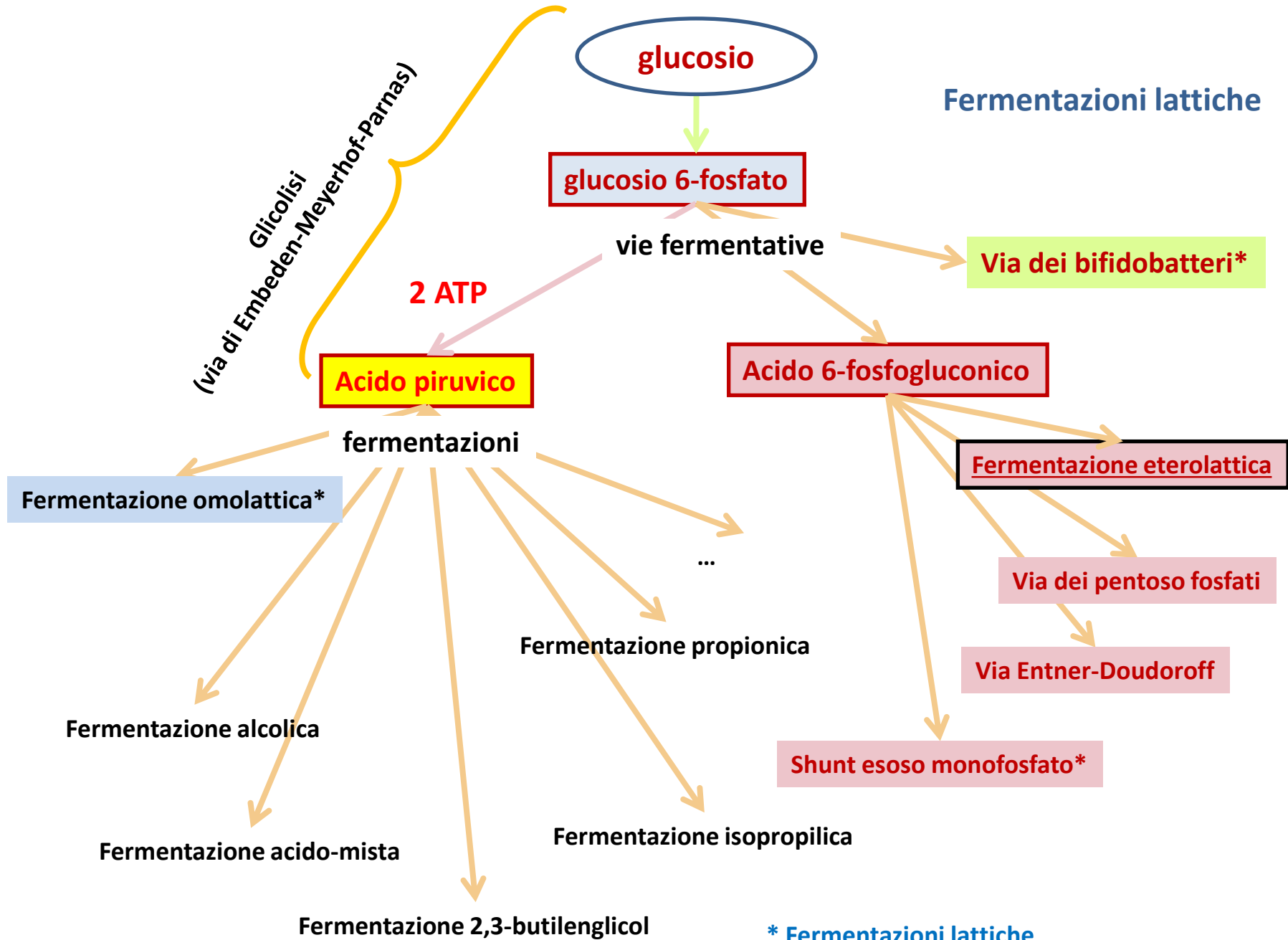


acido piruvico

acido lattico

(prodotto finale della fermentazione)

L'acido lattico trova applicazioni in numerose attività industriali: nei bagni di colorazione, come mordente nella stampa dei tessuti di lana, come solvente per coloranti insolubili in acqua, nella preparazione e confezione di formaggi, di bibite, nel trattamento di alcuni lieviti e dei pellami, nelle applicazioni alimentari e farmaceutiche dei lattati, come plastificante, come catalizzatore nella preparazione di resine alla fenolaldeide, nella saldatura dolce. Viene inoltre impiegato in medicina come antisettico e antifermentativo intestinale e per irrigare i tessuti.



Fermentazioni lattiche

* Fermentazioni lattiche
 I batteri lattici hanno un metabolismo fermentativo: sono anaerobi-aerotolleranti.

Fermentazione eterolattica (via della fosfochetolasi, via di Warburg e Dickens)

Batteri lattici etero-fermentanti
Lactobacillus pentoaceticus
Lecuoconostoc mesenteroides

...

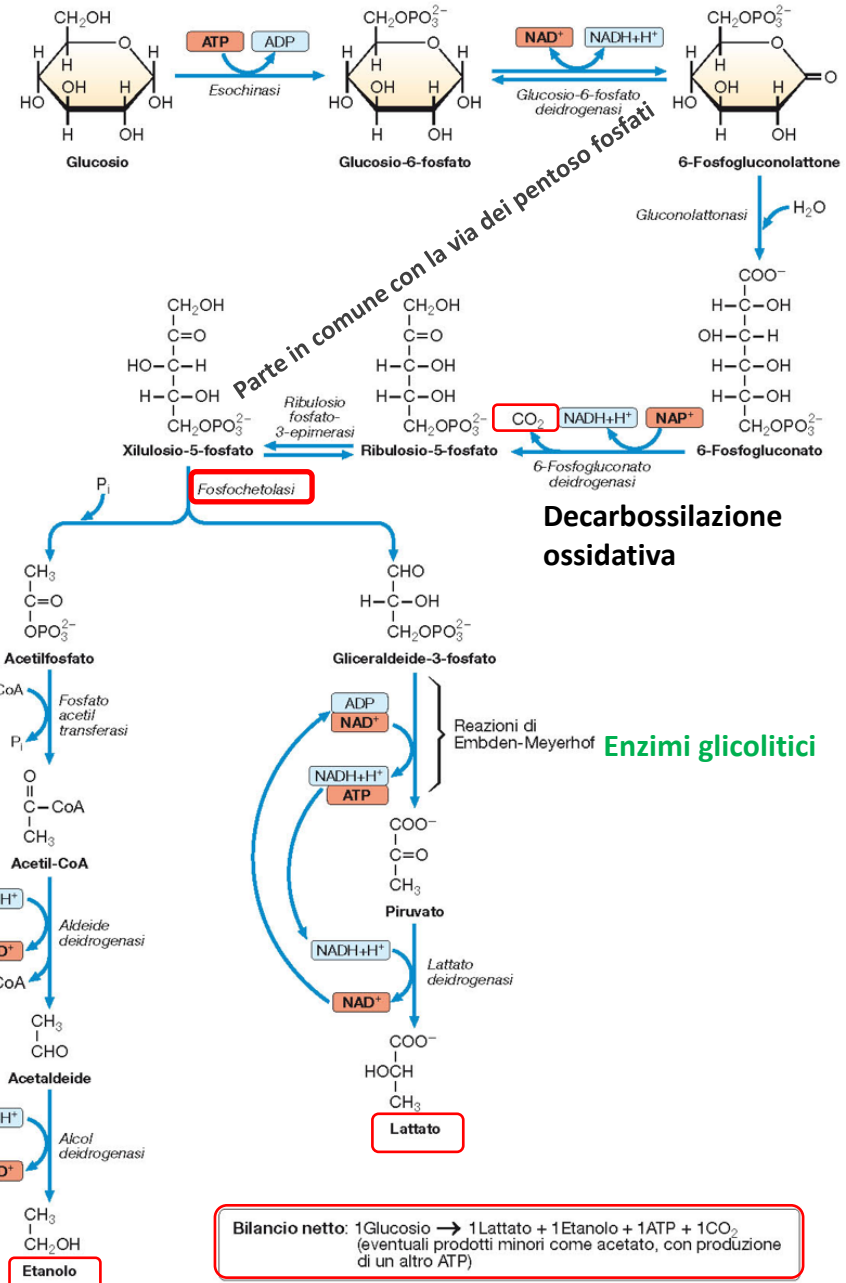
Alcuni batteri lattici (eterofermentanti), che non possiedono l'enzima 1,6-difosfato aldolasi coinvolto nella glicolisi, degradano il glucosio attraverso lo **shunt dell'esoso monofosfato**.

L'enzima chiave di questa fermentazione è la **fosfochetolasi**.

Non c'è produzione di ATP nelle reazioni che portano alla formazione di etanolo.

Prodotti finali

- Ac. Lattico
- Etanolo
- CO₂
- (acetato)



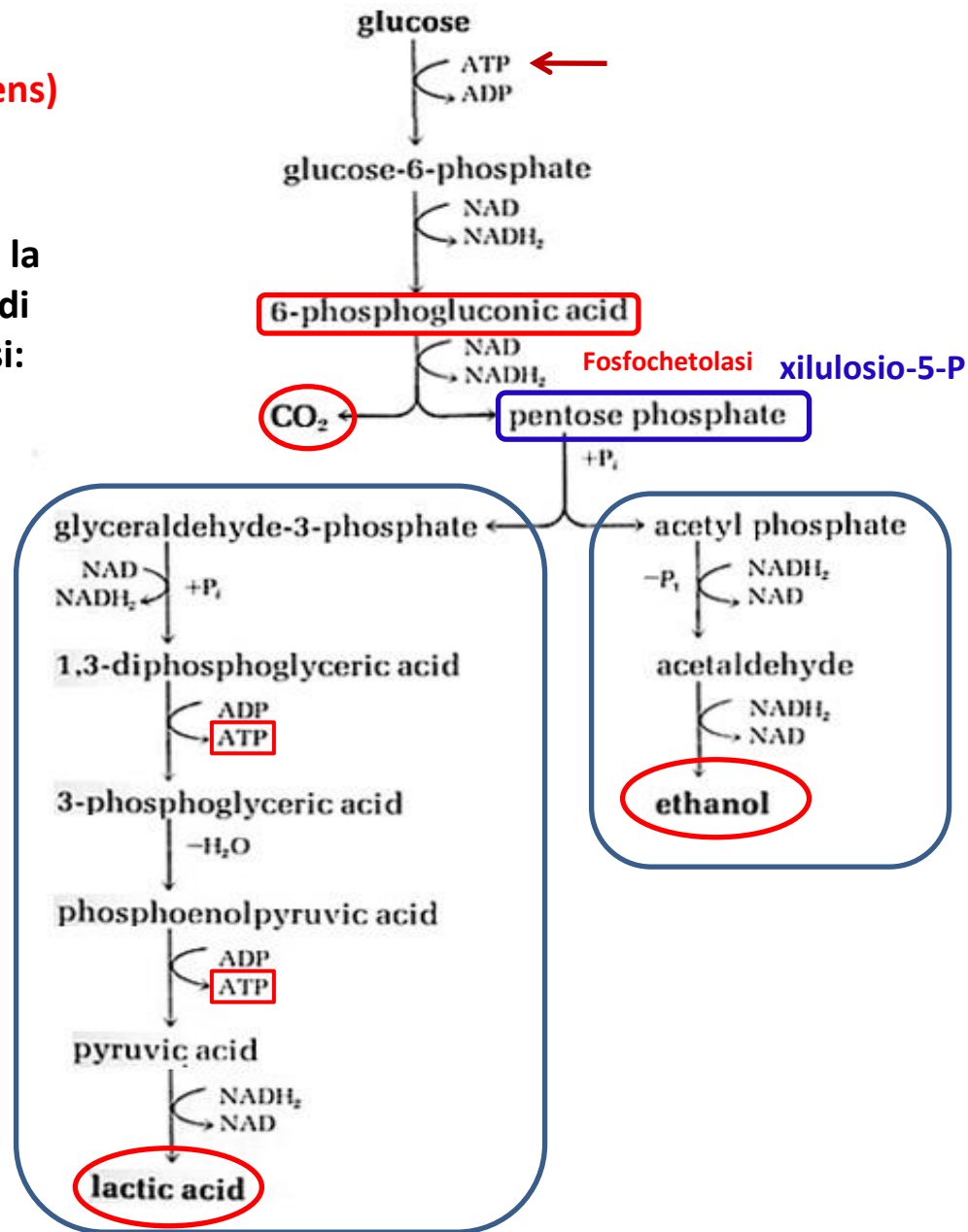
Fermentazione eterolattica

(via della fosfochetolasi, via di Warburg e Dickens)

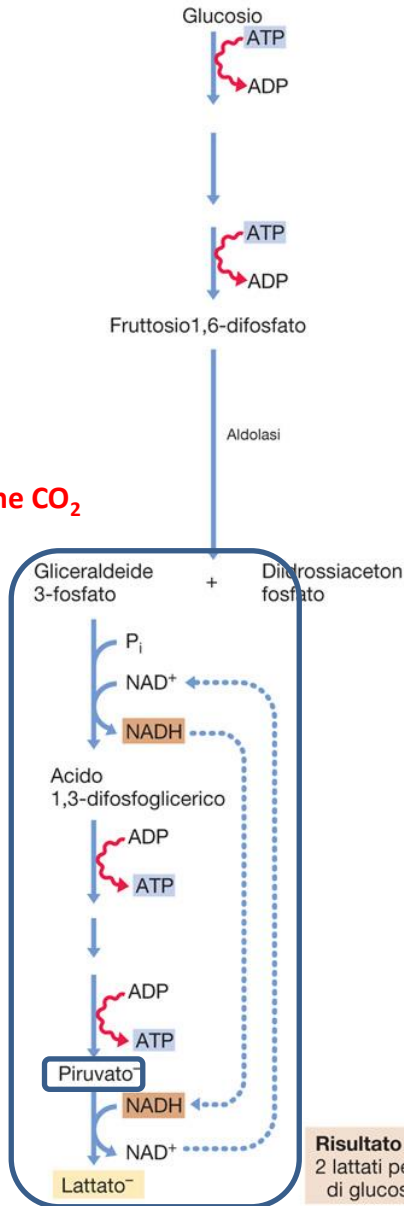
Diversamente dalla fermentazione omolattica, la fermentazione eterolattica segue un processo di degradazione del glucosio diverso dalla glicolisi:

- Manca l'enzima aldolasi, che scinde il fruttosio 1,6-difosfato in due molecole di trioso fosfato.
- Il glucosio-6-fosfato viene ossidato a 6-fosfogluconato con successiva produzione di

Acido lattico
Etanolo
CO₂
ATP
(acetato)



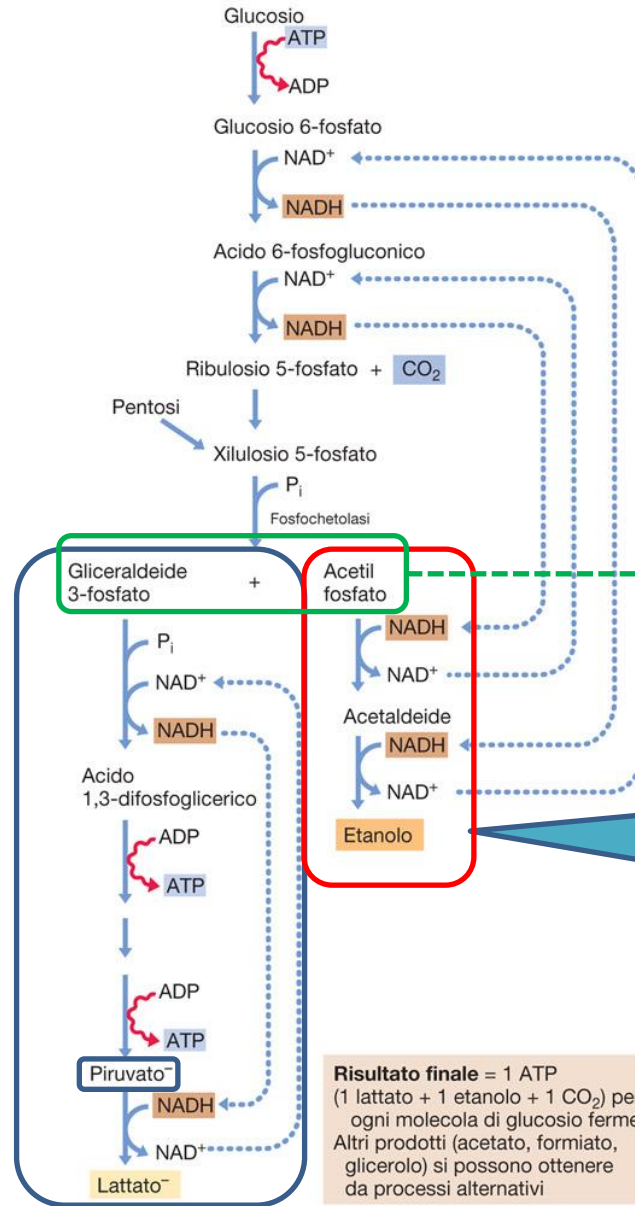
Omofermentativi



Risultato finale = 2 ATP
2 lattati per ogni molecola di glucosio fermentata

Senza produzione CO₂

Eterofermentativi



Risultato finale = 1 ATP
(1 lattato + 1 etanolo + 1 CO₂) per ogni molecola di glucosio fermentata
Altri prodotti (acetato, formiato, glicerolo) si possono ottenere da processi alternativi

In condizioni aerobiche alcuni eterofermentanti, utilizzando NADH, possono ridurre l'ossigeno con produzione di H₂O.

La formazione di lattato consente la sintesi di una molecola di ATP

Anche altri prodotti (acetato, formiato, glicerolo)

Non vi è sintesi di ATP durante la produzione di etanolo

Fermentazioni del glucosio

Fermentazione alcolica

glucosio

glucosio 6-fosfato

Glicolisi
(via di Embeden-Meyerhof-Parnas)

vie fermentative

Via dei bifidobatteri*

2 ATP

Acido piruvico

Acido 6-fosfogluconico

fermentazioni

Via dei pentoso fosfati

Fermentazione omolattica*

...

Fermentazione propionica

Via Entner-Doudoroff

Fermentazione alcolica

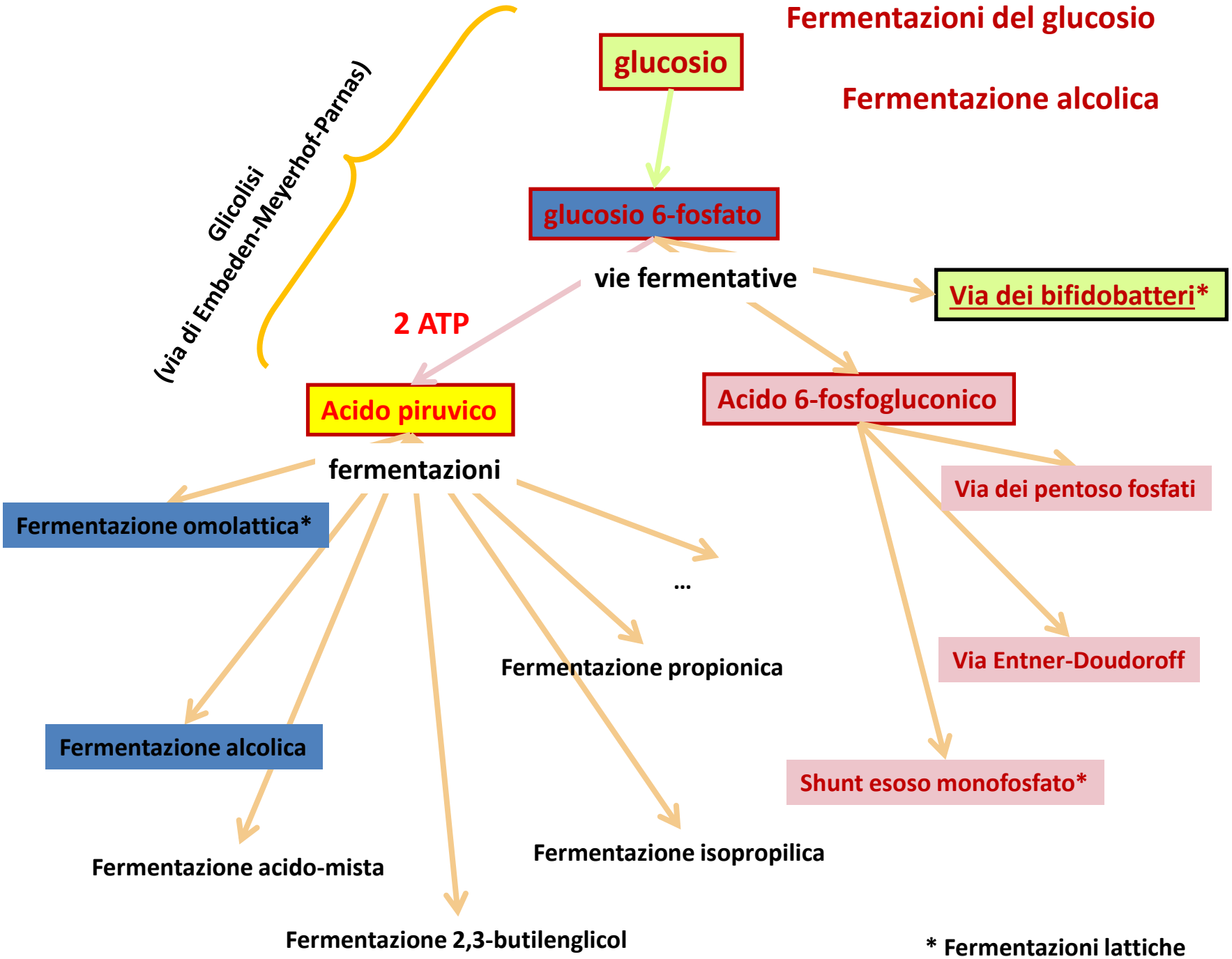
Shunt esoso monofosfato*

Fermentazione acido-mista

Fermentazione isopropilica

Fermentazione 2,3-butilenglicol

* Fermentazioni lattiche



Via dei bifidobatteri (shunt dell'esosofosfato chetolasi)

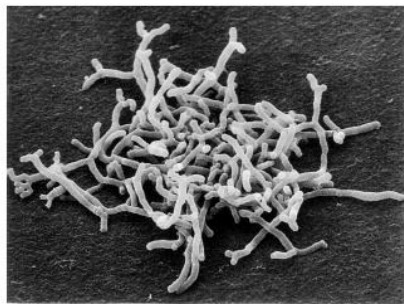
Anche questi batteri lattici difettano della fruttosio-1,6-difosfato aldolasi.

Essi degradano gli esosi sfruttando la via del fruttosio-6-P

Enzimi chiave

Fruttosio-6-P fosfochetolasi
Xilulosio-5-P fosfochetolasi

Produzione di
Acido lattico
Acido acetico
(Etanolo)
ATP



Bifidobacterium longum

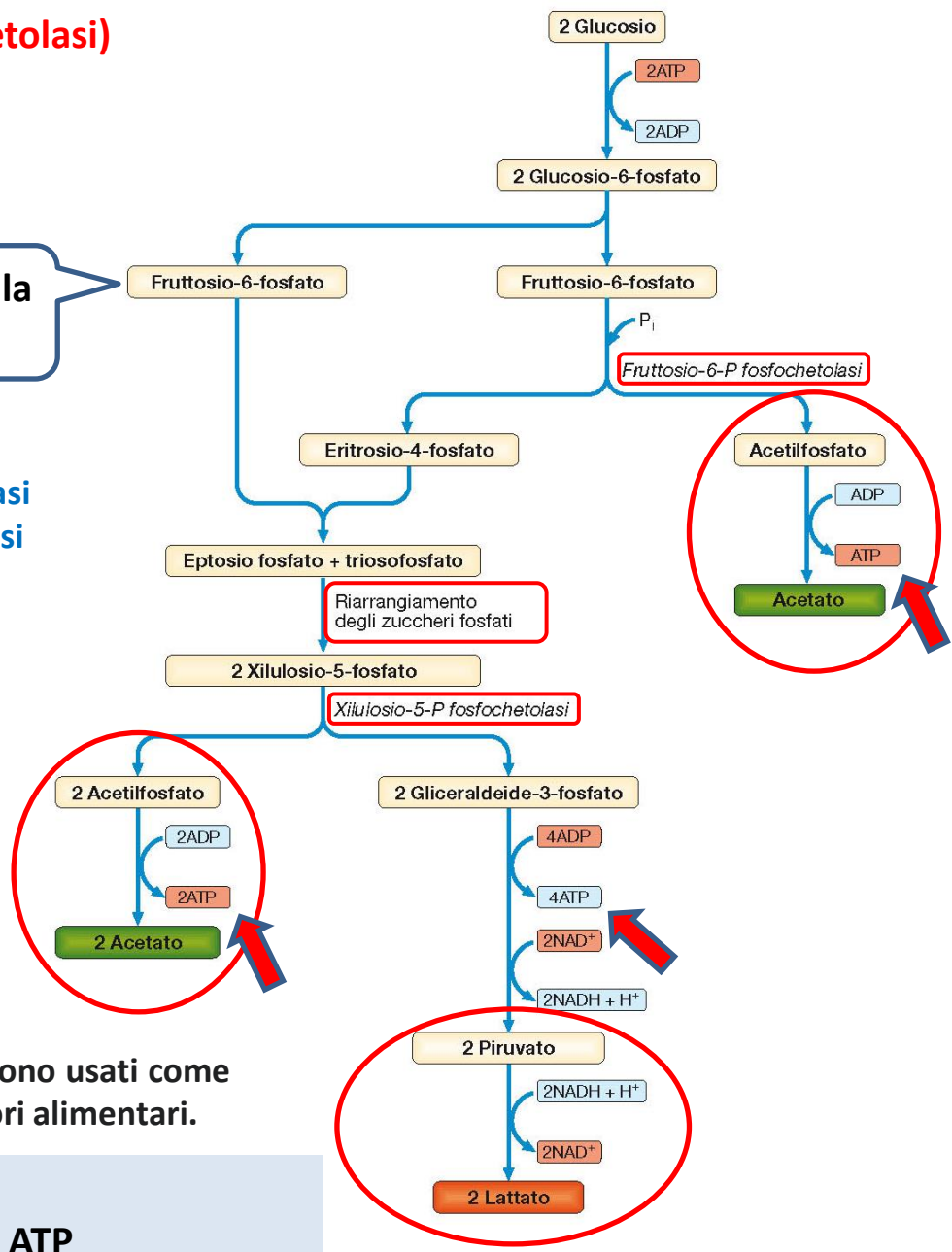
Bifidobacterium

G+ → morfologia a bastoncino biforcuto

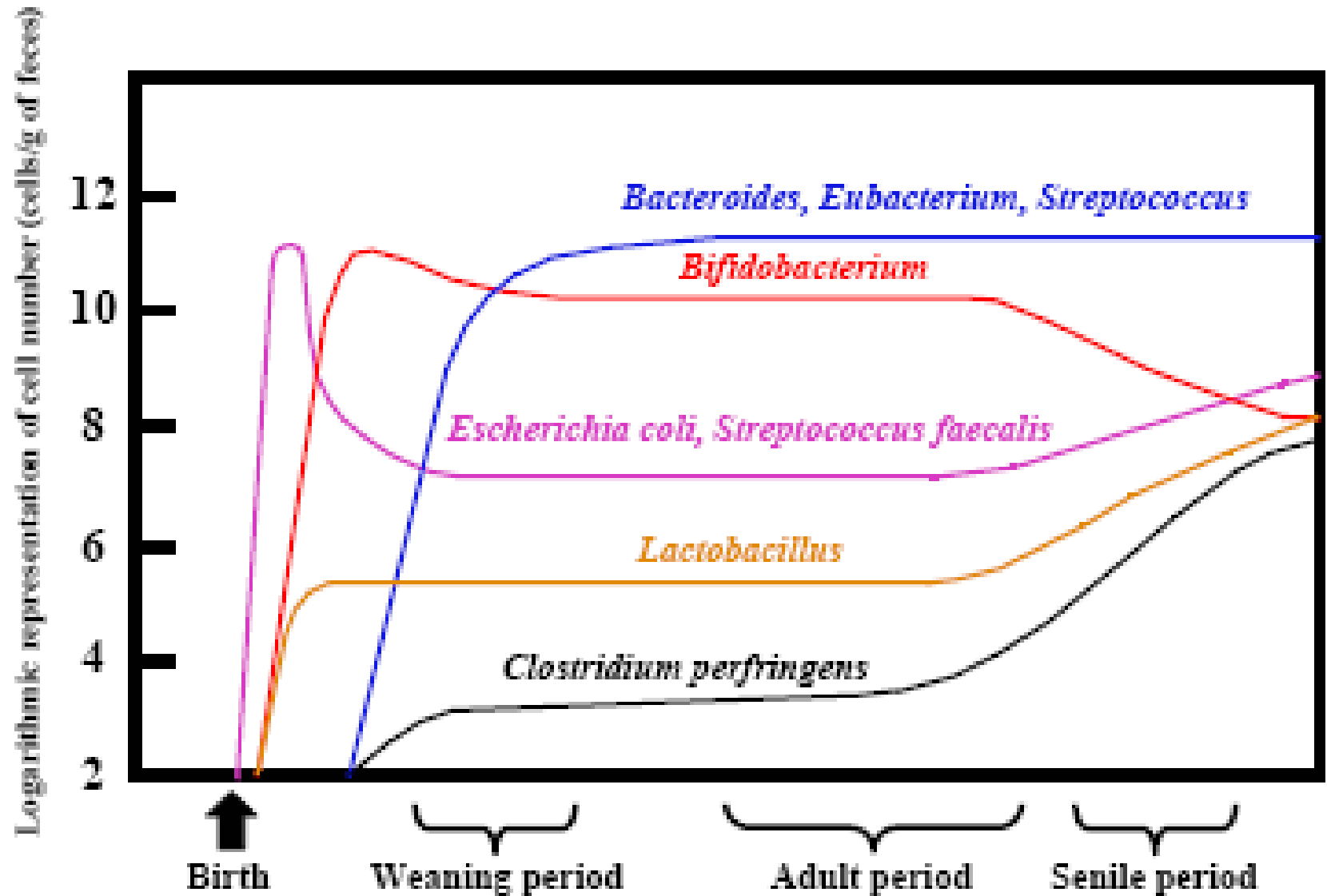


Ceppi del genere *Bifidobacterium* sono usati come componente probiotica in integratori alimentari.

2 glucosio → 3 acido acetico + 2 acido lattico
Per 2 moli di glucosio si ha una resa netta di 5 moli ATP



Alteration of Intestinal Microflora in Human Lifetime



Fermentazioni del glucosio

Fermentazione alcolica

glucosio

glucosio 6-fosfato

Glicolisi
(via di Embeden-Meyerhof-Parnas)

vie fermentative

Via dei bifidobatteri*

2 ATP

Acido piruvico

Acido 6-fosfogluconico

fermentazioni

Via dei pentoso fosfati

Fermentazione omolattica*

...

Fermentazione propionica

Via Entner-Doudoroff

Fermentazione alcolica

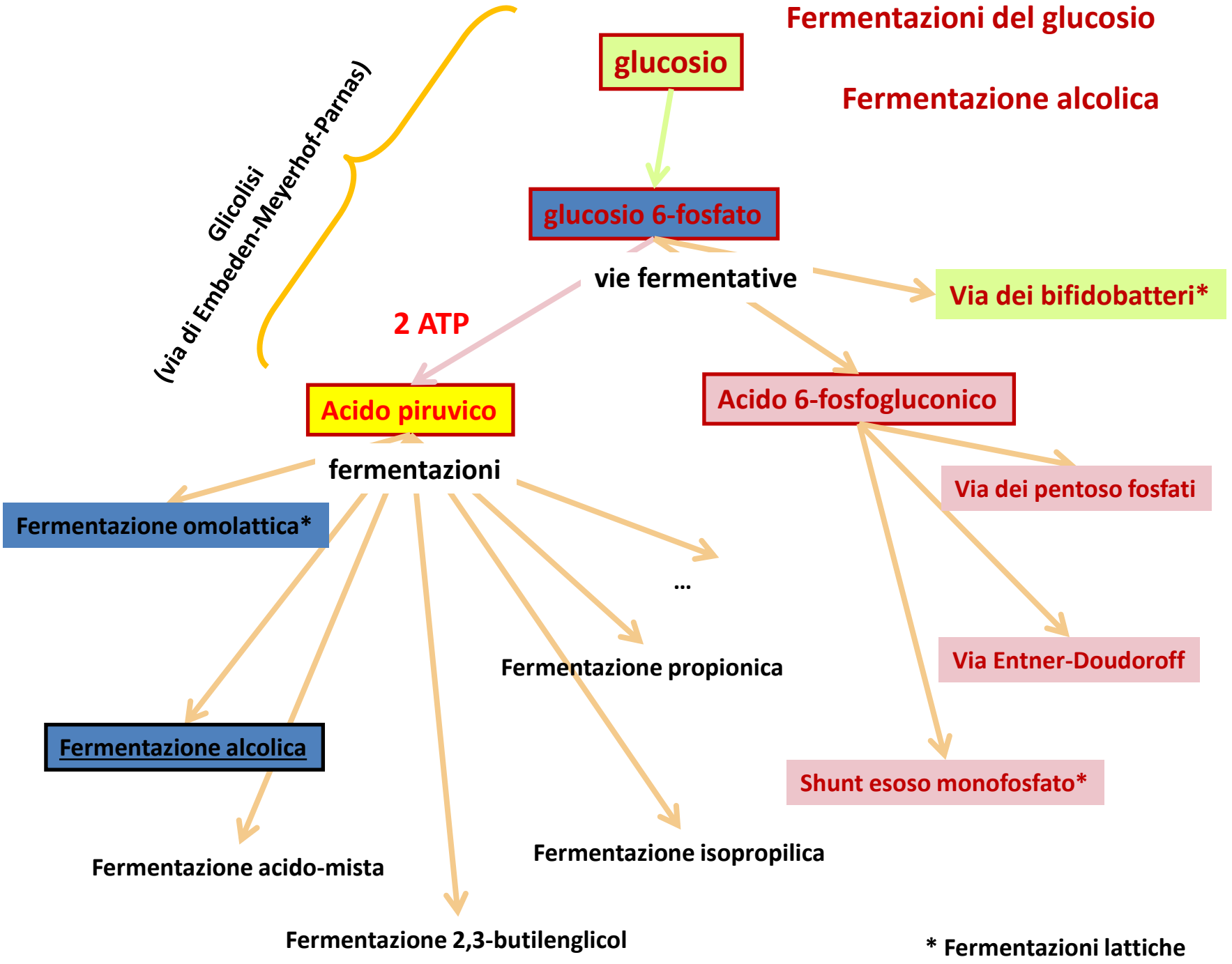
Shunt esoso monofosfato*

Fermentazione acido-mista

Fermentazione isopropilica

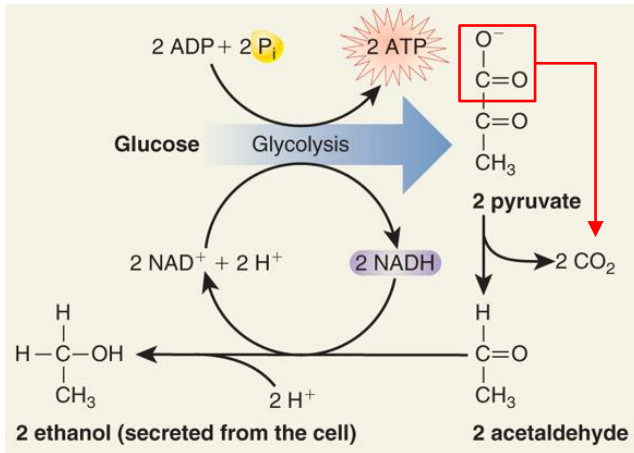
Fermentazione 2,3-butilenglicol

* Fermentazioni lattiche



Fermentazione alcolica

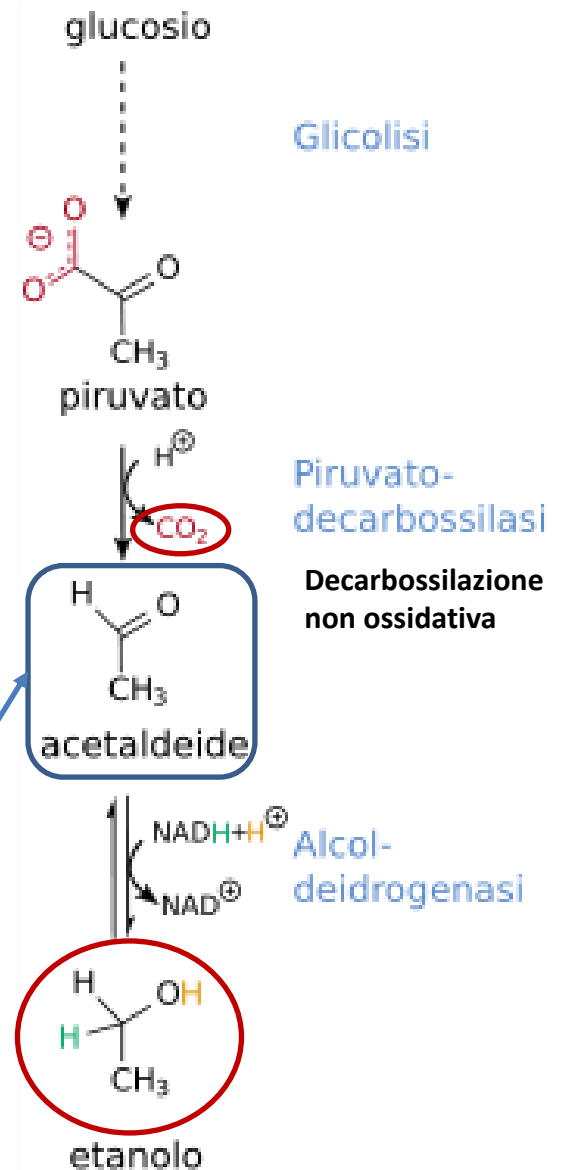
Molti microrganismi (funghi, batteri, alghe e protozoi) fermentano gli zuccheri con produzione di **etanolo** e **CO₂**.



Decarbossilazione
non ossidativa

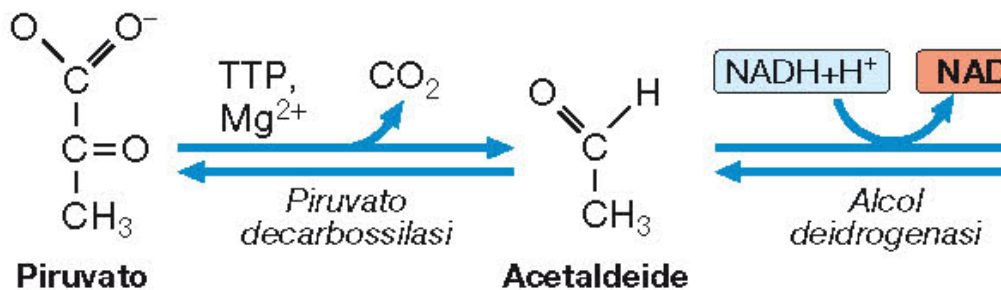
Dal piruvato, per **decarbossilazione non ossidativa**, si ottengono **acetaldeide** e **CO₂**.

→ **L'acetaldeide (accettore di e⁻)** viene ridotta ad etanolo mediante NADH (prodotto nel corso della glicolisi).

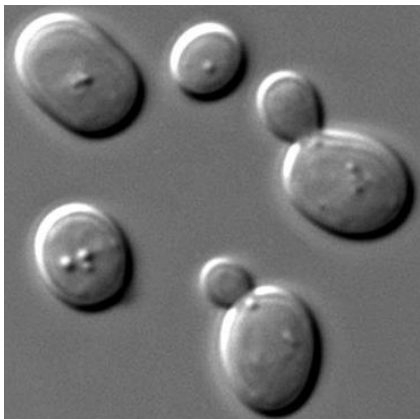


Da 1 molecola di glucosio (o fruttosio) si ottengono **2 molecole di etanolo** e **2 di CO₂**.

Fermentazione alcolica



Fermentazione alcolica in *Saccharomyces cerevisiae*



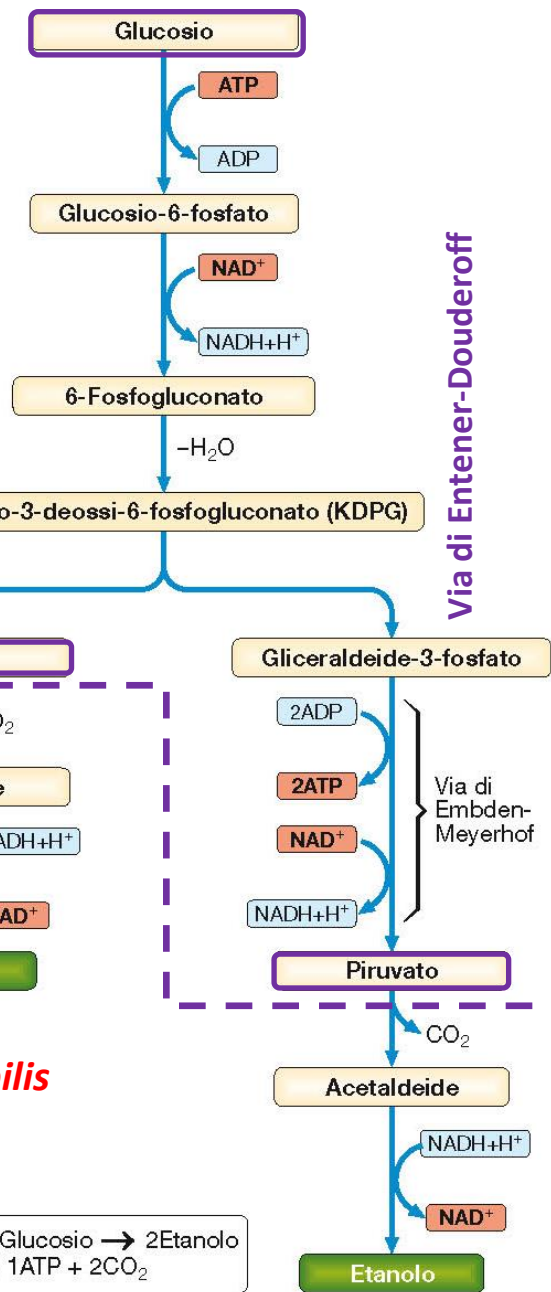
**Lievito
aerobio-anaerobio facoltativo**

<http://thewellnessadvantage.us/?dgl=14519>

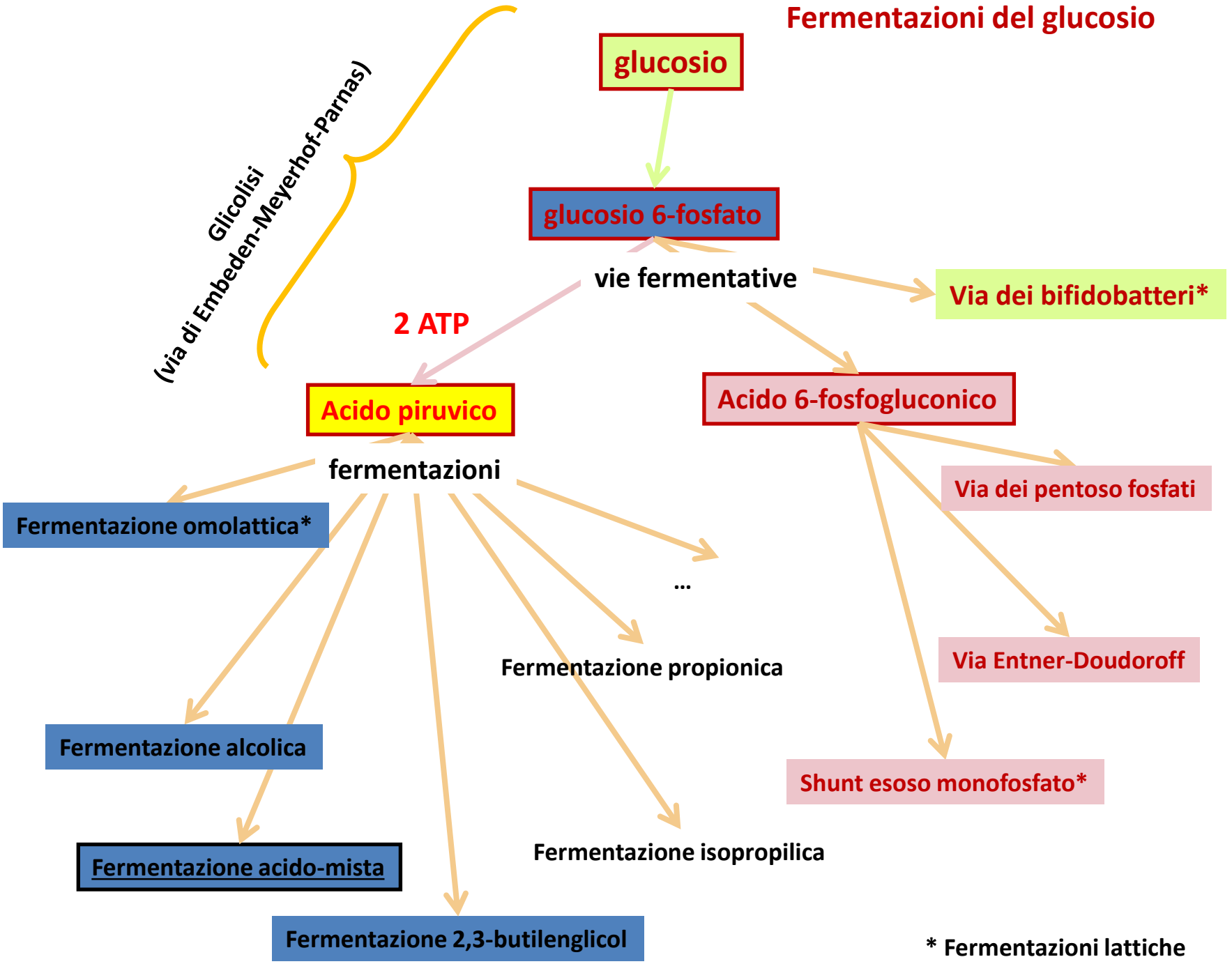
Fermentazione alcolica in *Zymomonas mobilis*

**Batterio più tollerante, rispetto ai
lieviti, all'etanolo**

Bilancio netto: 1 Glucosio → 2 Etanolo + 1 ATP + 2 CO₂



Fermentazioni del glucosio



* Fermentazioni lattiche

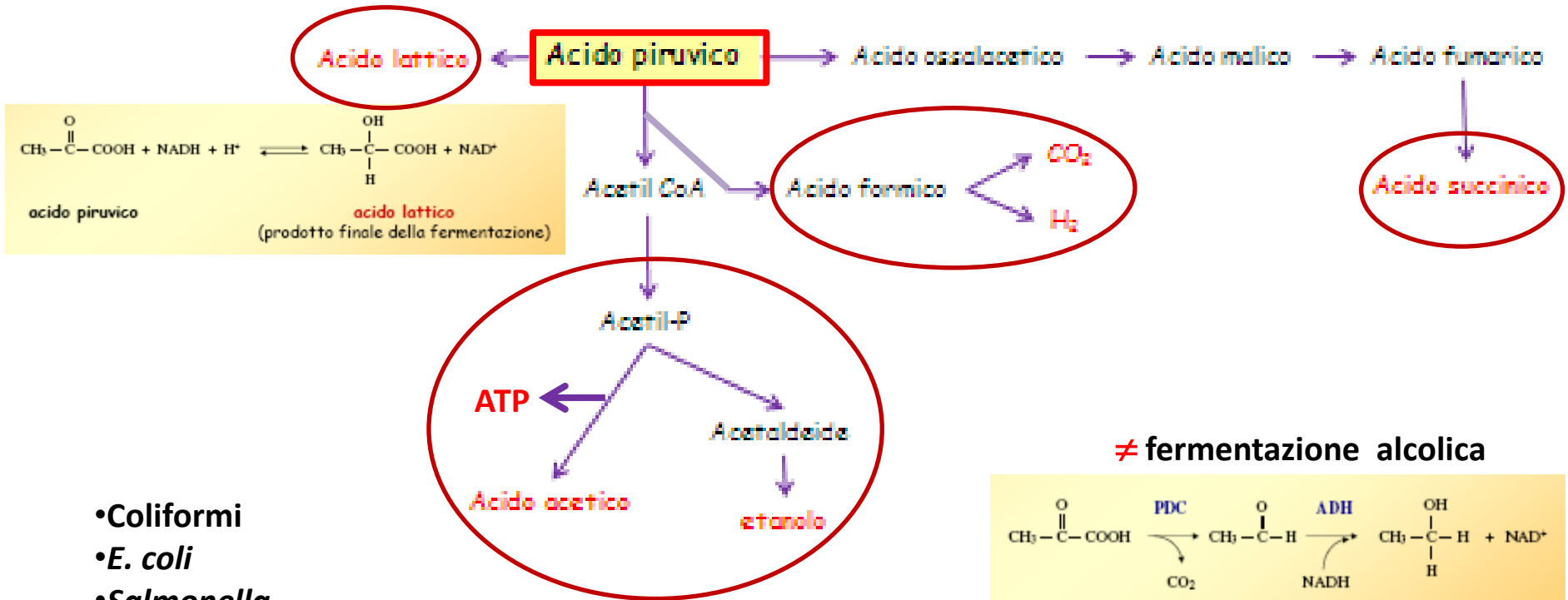
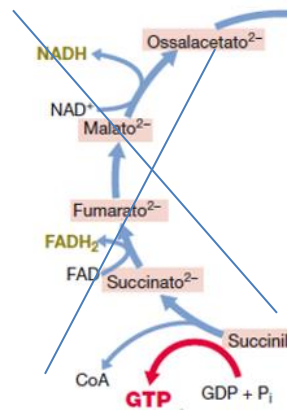
Fermentazione acido-mista

Prodotti finali: ac. lattico, ac. acetico, ac. succinico, ac. formico, etanolo, gas (CO₂, H₂).

I rapporti (quantità) tra i prodotti di fermentazione variano tra i vari microrganismi (rapporti specie-specifici).

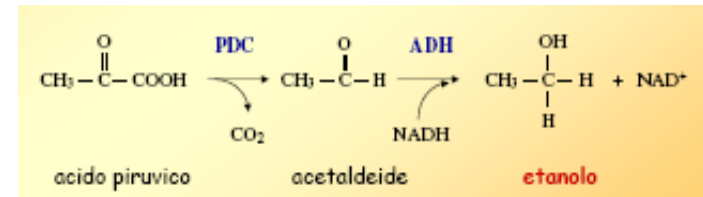
La fermentazione induce acidificazione della coltura.

Produzione di gas (CO₂, H₂) dall'ac. formico.



- Coliformi
- *E. coli*
- *Salmonella*
- *Shigella*
- *Proteus*
- *Vibrio*
- ...

≠ fermentazione alcolica



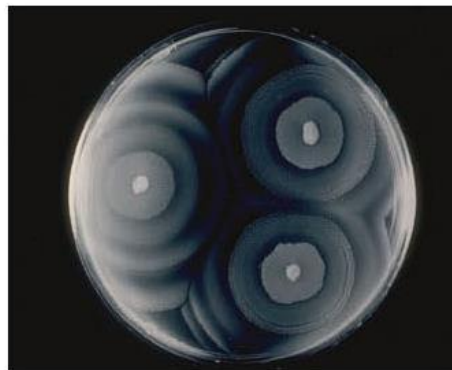
Tipica di questa fermentazione è anche la scissione tioclastica dell'acido piruvico, mediata dal coenzima A, che, attraverso l'acetil-fosfato, porta alla formazione di acido acetico, etanolo ed ATP.

Fermentazione acido-mista

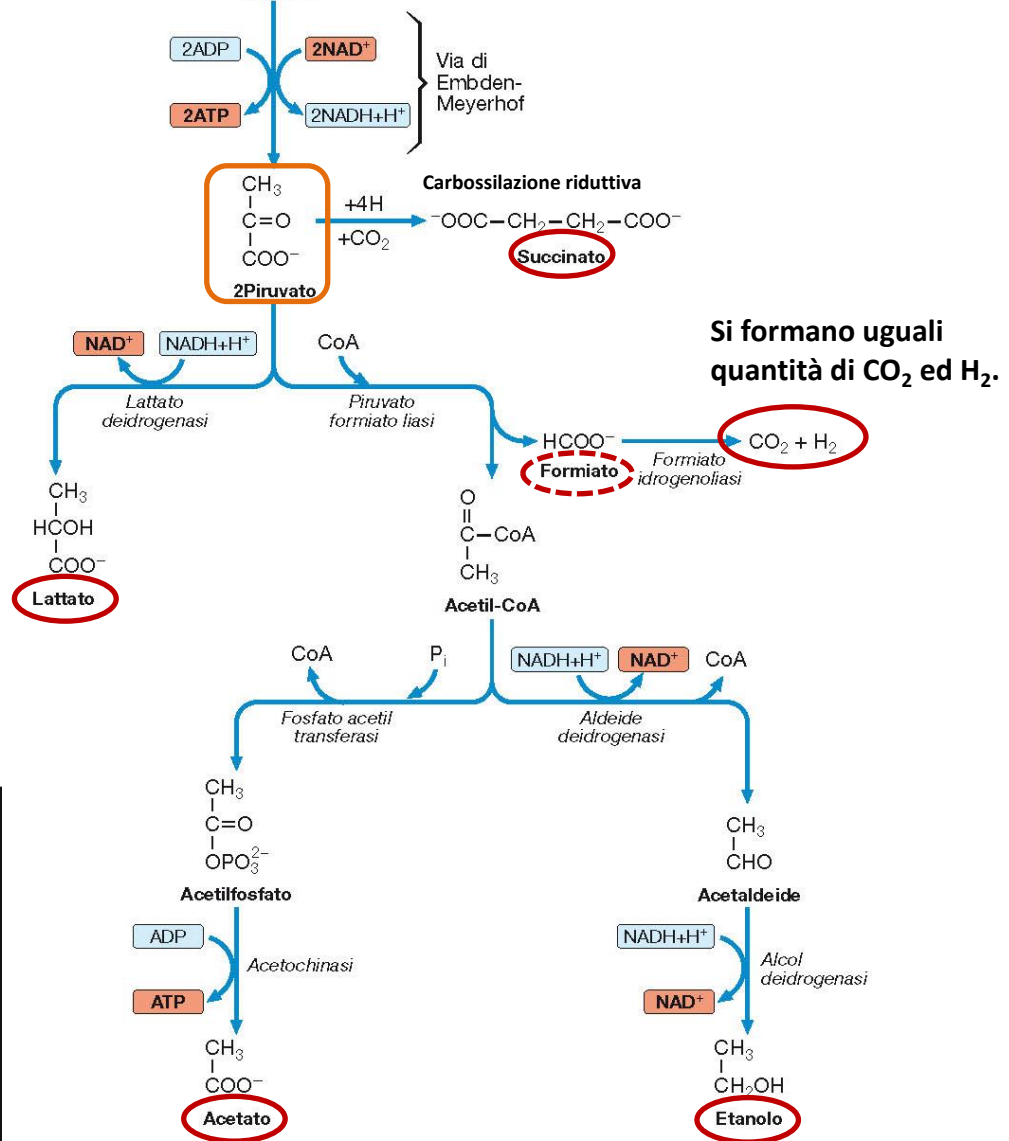
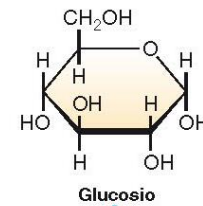
Prodotti finali:

acido lattico,
 acido acetico,
 acido succinico,
 acido formico → gas (CO₂, H₂),
 etanolo.

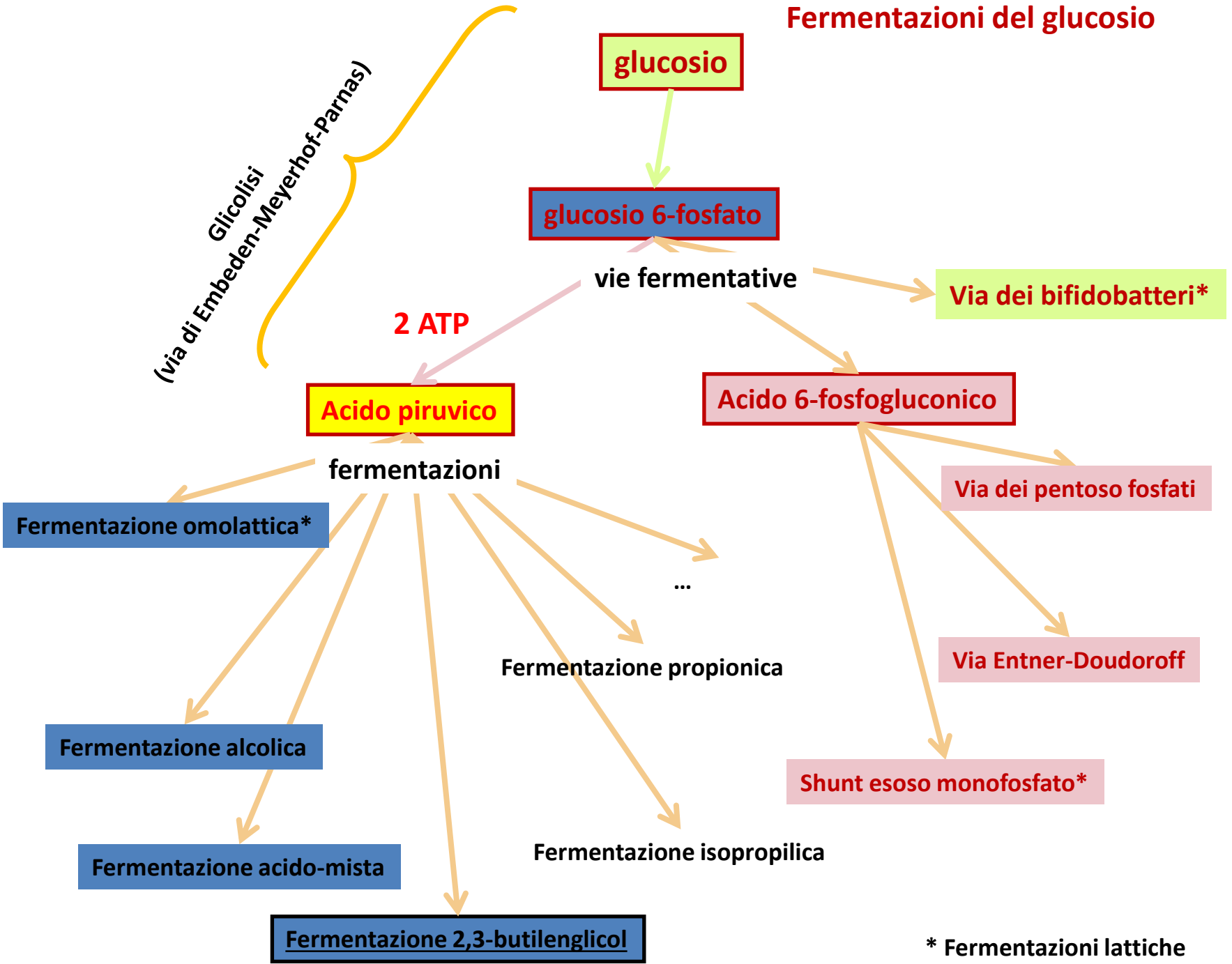
- Coliformi
- *E. coli*
- *Salmonella*
- *Shigella*
- *Proteus*
- *Vibrio*
- ...



Colonie sciamanti (cellule swarmer) di *P. mirabilis*



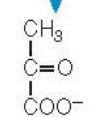
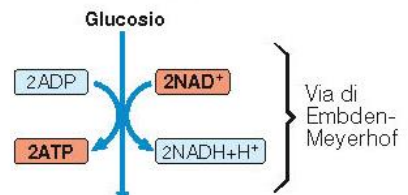
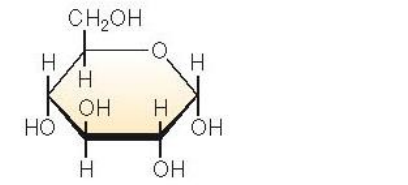
Fermentazioni del glucosio



* Fermentazioni lattiche

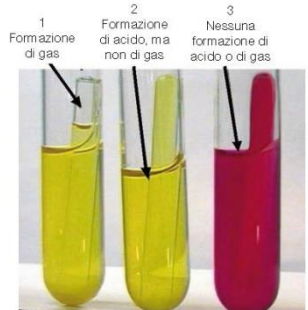
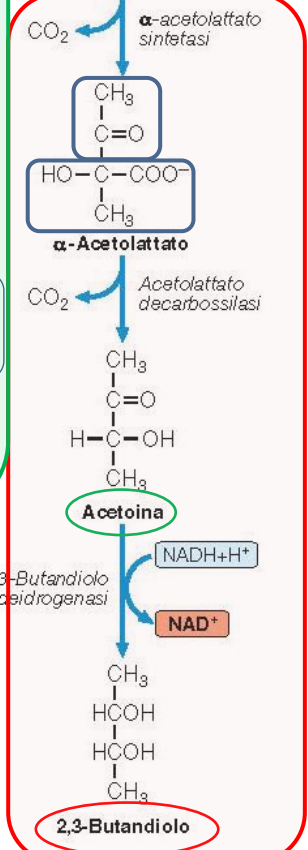
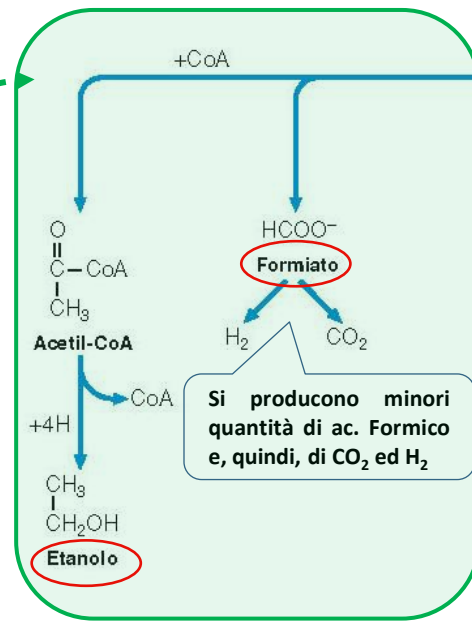
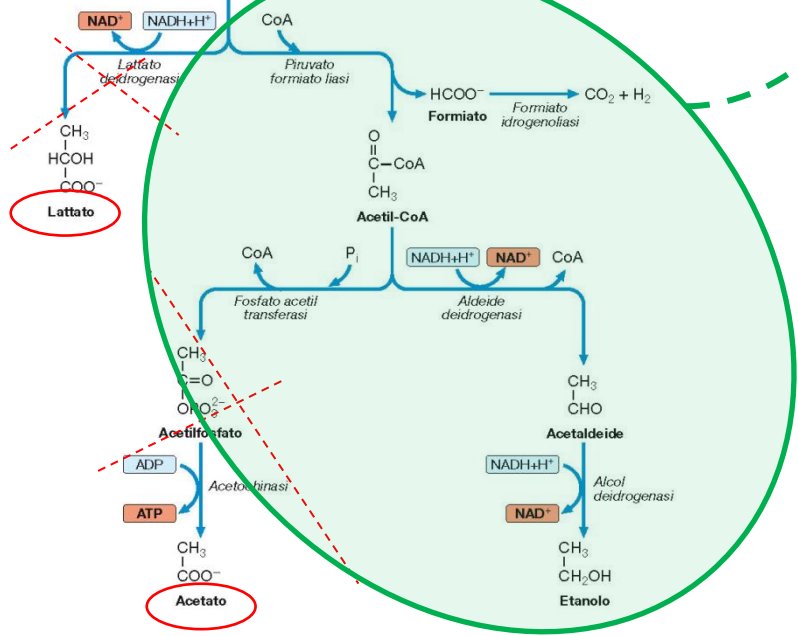
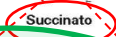
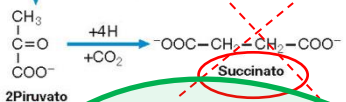
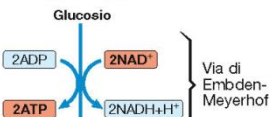
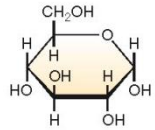
Fermentazione 2,3-butilenglicol (2,3-butandiolica)

Variante dell'acido-mista



Da 2 molecole di piruvato, si producono **butandiolo** (attraverso la formazione di **acetoina**), **etanolo**, **CO₂** ed **H₂**.

Fermentazione acido-mista



Fermentazione 2,3-butilenglicol (2,3-butandiolica)

acido lattico, acido acetico, acido succinico,
acido formico, etanolo, CO₂, H₂

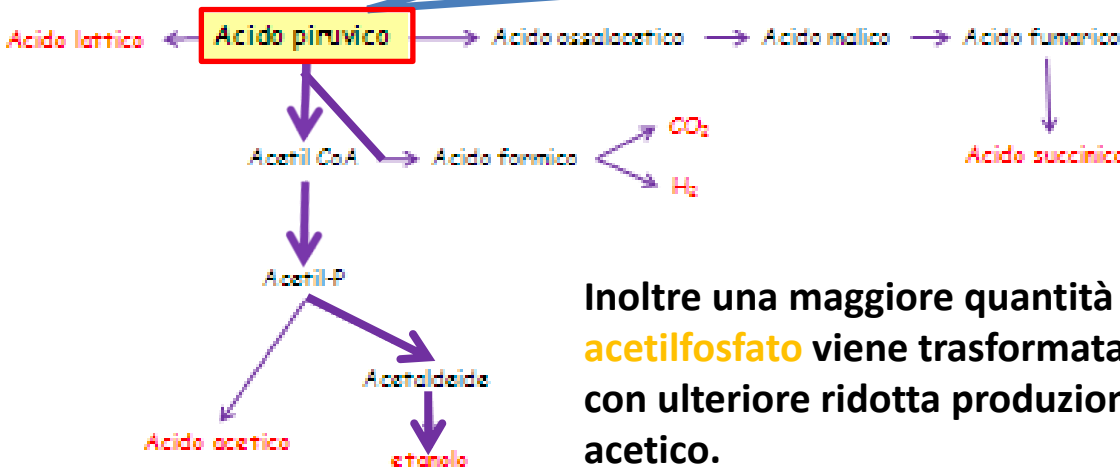
Oltre alle molecole della fermentazione acido-mista, viene prodotto **2,3-butilenglicol**.

Minore produzione di prodotti acidi.

Maggiore quantità di prodotti neutri (alcol).

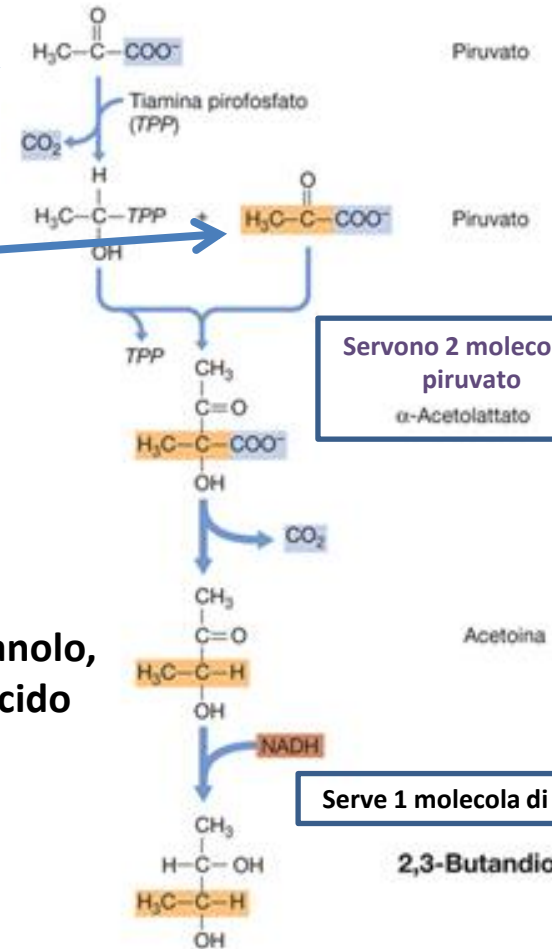
Parte dell'acido piruvico viene trasformato in **2,3-butilenglicol (prodotto neutro)**

ridotta quantità totale di acidi rispetto alla fermentazione acido-mista.



Inoltre una maggiore quantità di **acetilfosfato** viene trasformata in etanolo, con ulteriore ridotta produzione di acido acetico.

Coliformi (*Enterobacter*, *Serratia*, *Erwinia*), *Aeromonas*, ...



Servono 2 molecole di piruvato
α-Acetilossalato

Serve 1 molecola di NADH

Tabella 5.1 Prodotti delle fermentazioni acido mista e 2,3-butan-diolica.

| | FERMENTAZIONE ACIDO MISTA | FERMENTAZIONE 2,3-BUTANDIOLICA |
|--|---------------------------|--------------------------------|
| | <i>Escherichia coli</i> | <i>Enterobacter aerogenes</i> |
| Etanolo | 50 | 70 |
| 2,3-butandiolo | - | 66 |
| Acido acetico | 36 | 0,5 |
| Acido lattico | 79 | 3 |
| Acido succinico | 11 | - |
| Acido formico | 2,5 | 17 |
| H ₂ | 75 | 35 |
| CO ₂ | 88 | 172 |
| Totale degli acidi prodotti | 129 | 20 |
| Rapporto CO ₂ :H ₂ | 1:1 | 5:1 |

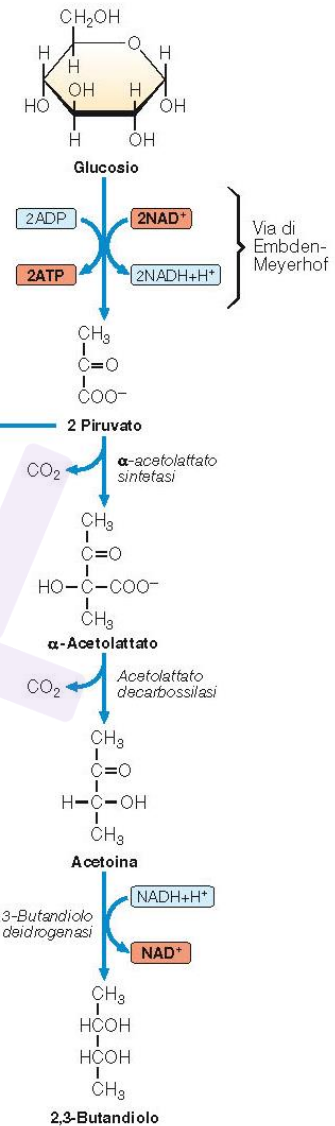
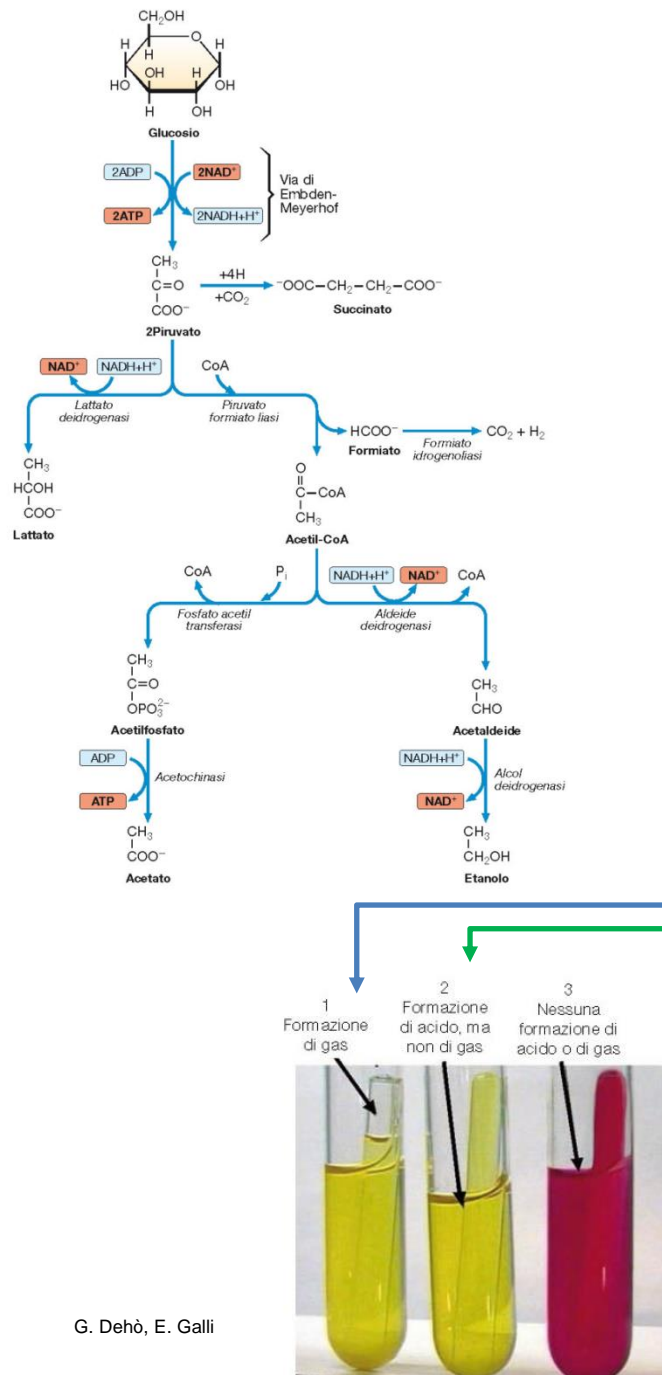


Tabella 5.2 Generi di Enterobacteriaceae con fermentazione acido mista e 2,3-butandiolica.



FERMENTAZIONE ACIDO MISTA

Generi di Enterobacteriaceae che producono CO₂ e H₂ (possiedono l'enzima formico idrogenolasi)

- *Citrobacter*
- *Escherichia*
- *Proteus*
- *Salmonella* (la maggior parte delle specie)
- *Providencia* (alcune specie)

Generi di Enterobacteriaceae che non producono CO₂ e H₂ (non possiedono l'enzima formico idrogenolasi)

- *Shigella*
- *Salmonella typhi*
- *Yersinia*
- *Providencia* (alcune specie)

FERMENTAZIONE 2,3-BUTANDIOLICA

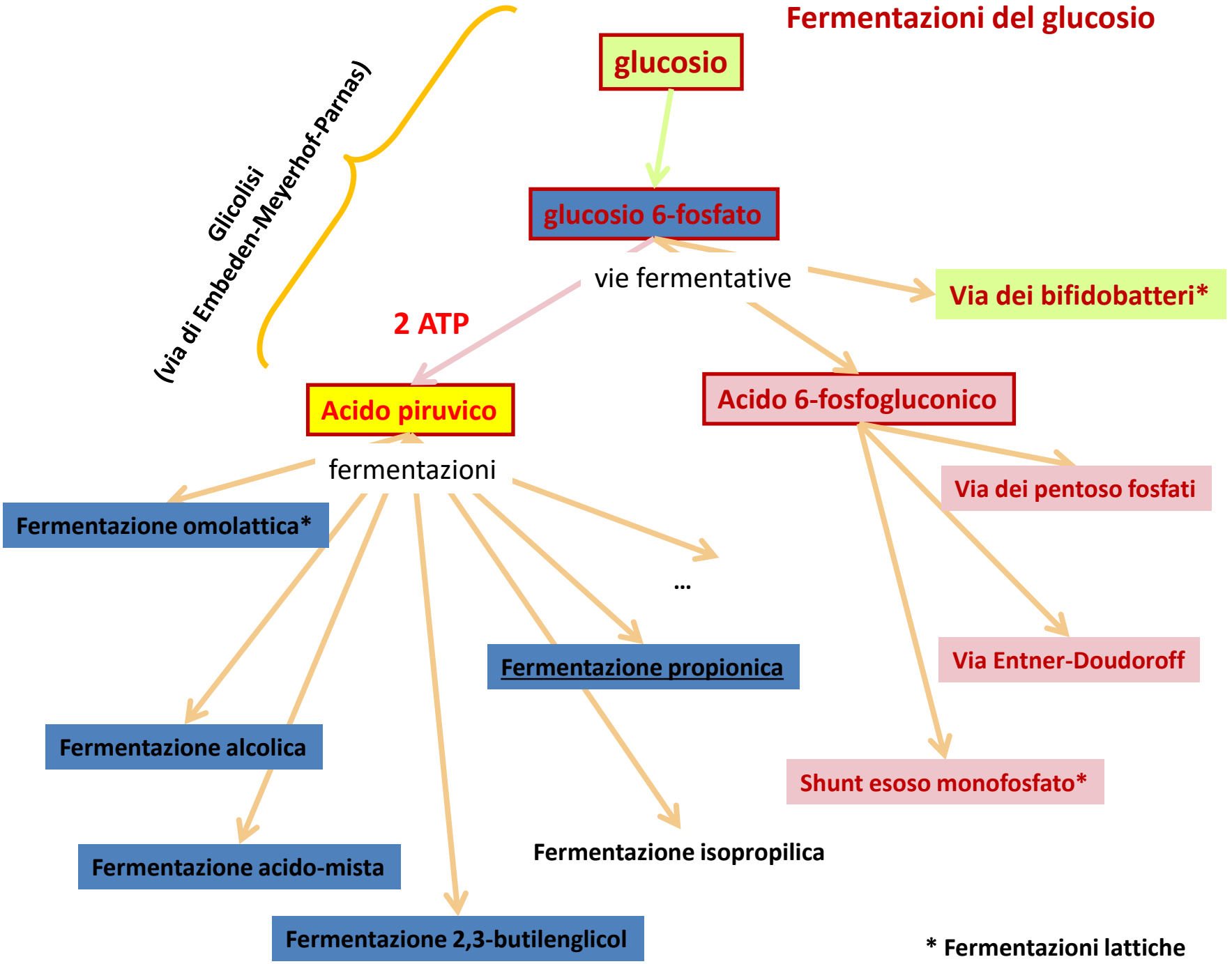
Generi di Enterobacteriaceae che producono CO₂ e H₂ (possiedono l'enzima formico idrogenolasi)

- *Enterobacter*

Generi di Enterobacteriaceae che non producono CO₂ e H₂ (non possiedono l'enzima formico idrogenolasi)

- *Serratia*
- *Erwinia herbicola*
- *Erwinia carotovora*

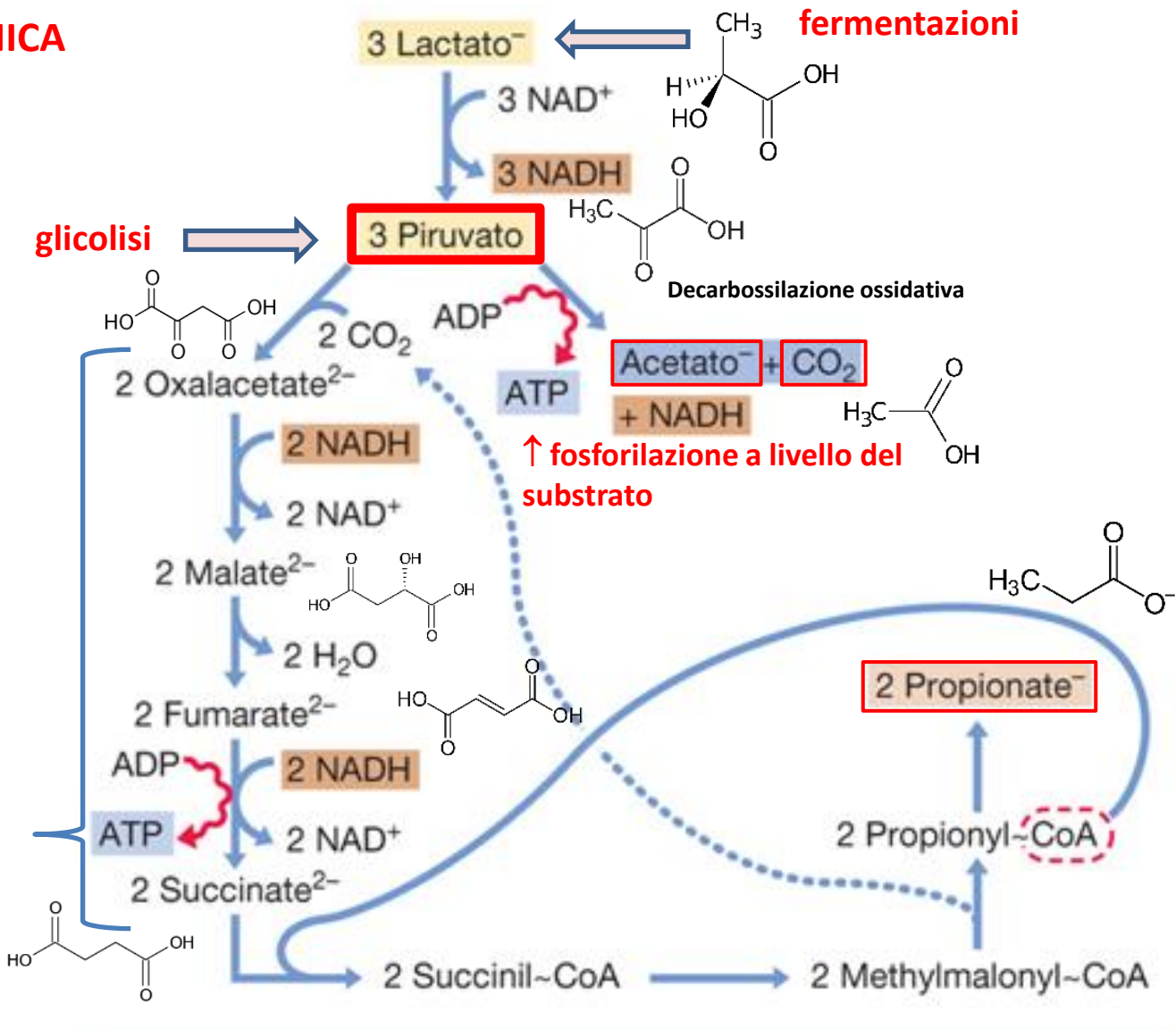
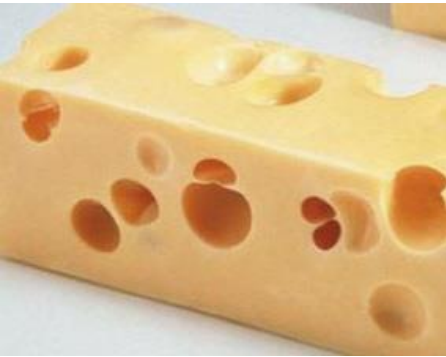
Fermentazioni del glucosio



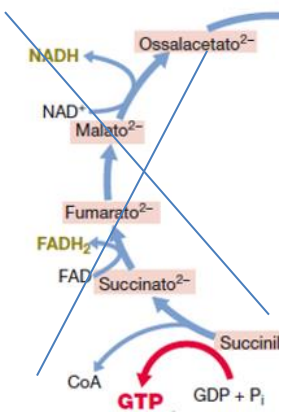
FERMENTAZIONE PROPIONICA

La fermentazione propionica coinvolge il **piruvato**, derivato dalla **glicolisi** o dall'**ossidazione del lattato** (ottenuto dalla fermentazione di altri batteri lattici).

Propionibacterium (Gram +)

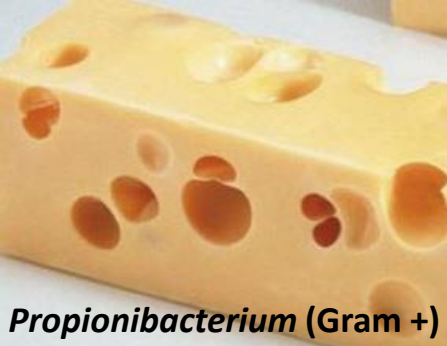


Stoichiometry:
 $3 \text{ Lactato} \longrightarrow 2 \text{ Propionate}^- + \text{Acetato}^- + \text{CO}_2 + 3\text{-}5\text{ATP}$



FERMENTAZIONE PROPIONICA

La fermentazione coinvolge il **piruvato**, derivato dalla **glicolisi** o dall'**ossidazione del lattato** (ottenuto dalla fermentazione di altri batteri lattici).



Propionibacterium (Gram +)

Il piruvato in parte viene trasformato ad **ossalacetato** ed in parte ad **acetato e CO₂**.

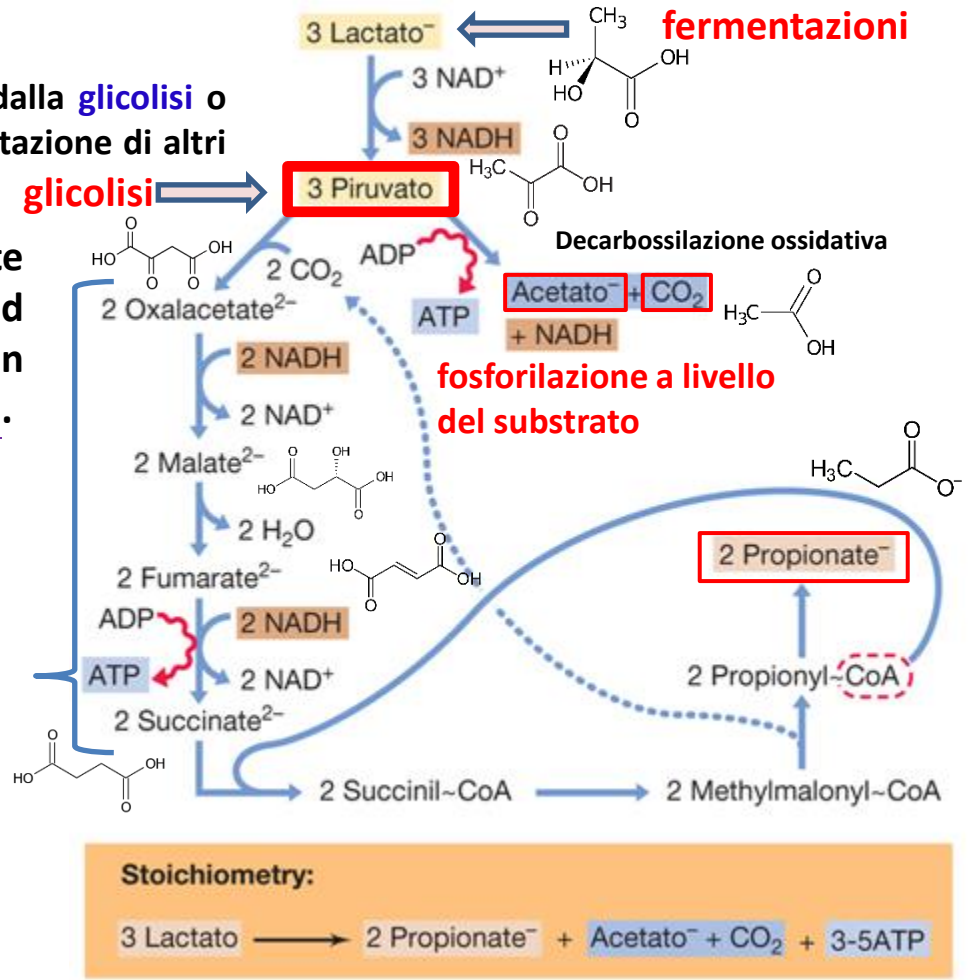
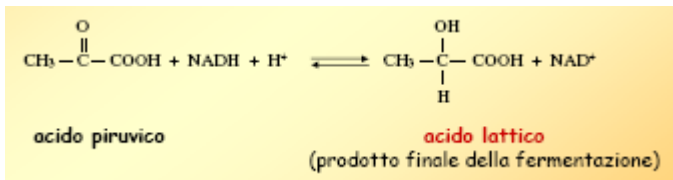
La trasformazione dell'ossalacetato fino a succinato consente l'**ossidazione del NADH** e la sintesi di ATP (**fosforilazione ossidativa**)

I prodotti di fermentazione del piruvato sono
acido propionico
acido acetico
CO₂

Questi microrganismi possono utilizzare come substrato il lattato, prodotto dal metabolismo dei batteri lattici (**consorzi microbici**)

3 ac. lattico → 3 ac. piruvico → 2 ac. propionico + 1 ac. acetico + 1 CO₂

↑
Fermentazione glucosio



← **Fermentazione secondaria**

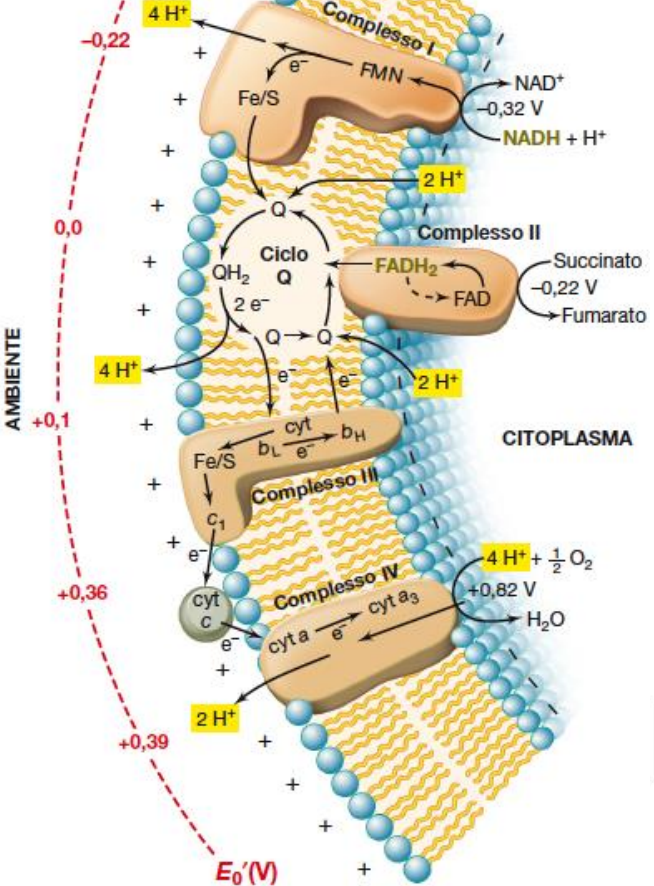
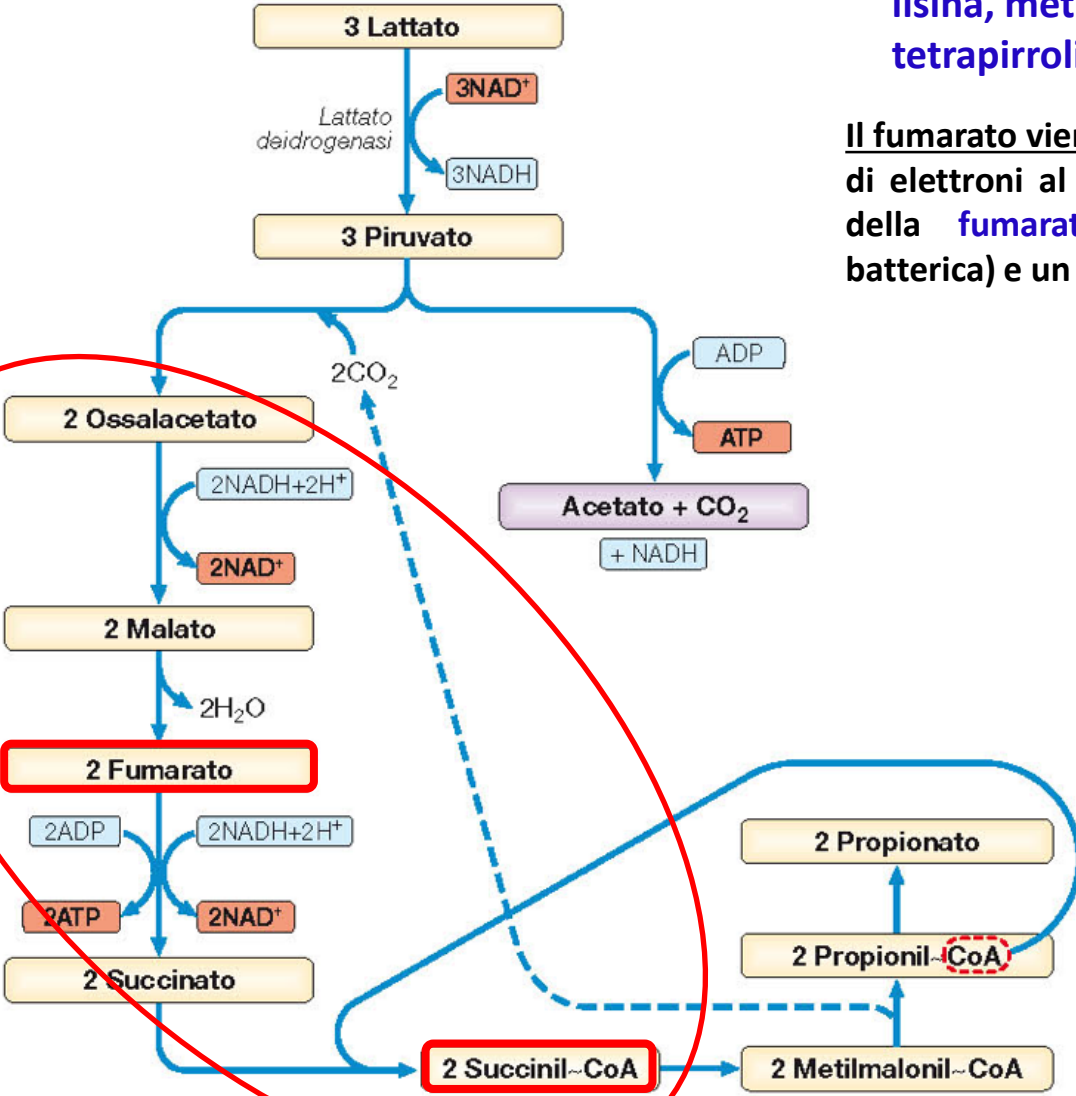
Molti microrganismi hanno come habitat il rumine, dove utilizzano l'acido lattico.

Significato fisiologico della fermentazione propionica:

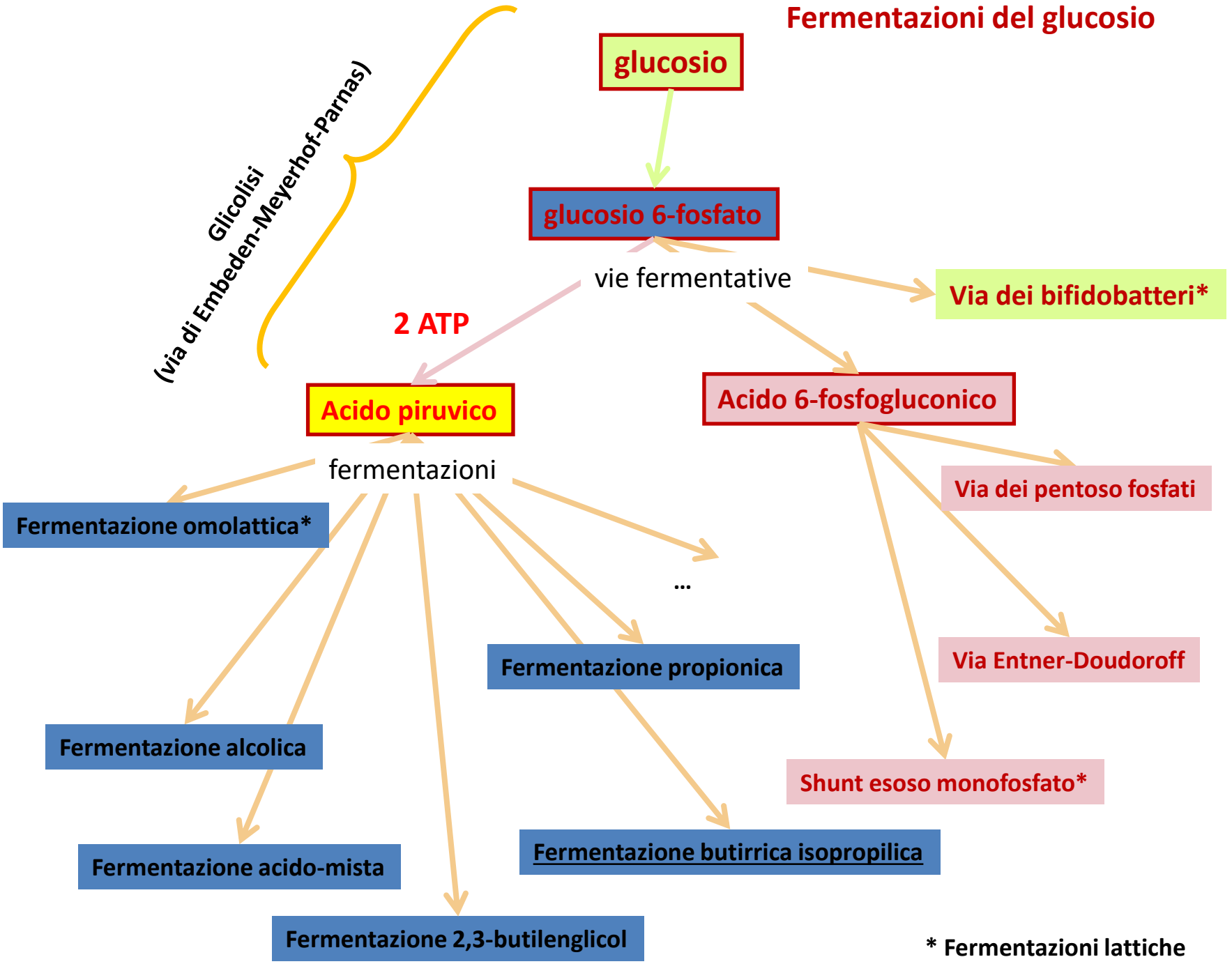
Il percorso metabolico da piruvato a succinato è importante nel metabolismo anaerobico

- il **fumarato** consente la **riossidazione del NADH**;
- il **succinato** convertito a succinil-CoA può essere impiegato come **precursore nella biosintesi di lisina, metionina, acido diamminopimelico e tetrapirroli (B₁₂)**.

Il fumarato viene utilizzato come **accettore di e⁻**. Il flusso di elettroni al fumarato avviene con il coinvolgimento della **fumarato reduttasi** (legata alla membrana batterica) e un chinone.



Fermentazioni del glucosio



* Fermentazioni lattiche

Fermentazione butirrica-isopropilica *Clostridium* (G+, anaerobi, sporigeni)



Sono privi di catena respiratoria; l'ATP viene ottenuto per **fosforilazione a livello del substrato**.

Prodotti finali della fermentazione (variano in funzione delle diverse specie e delle condizioni ambientali): acido butirrico, acido acetico, isopropanolo, acetone, butanolo, etanolo, CO_2 , H_2 .

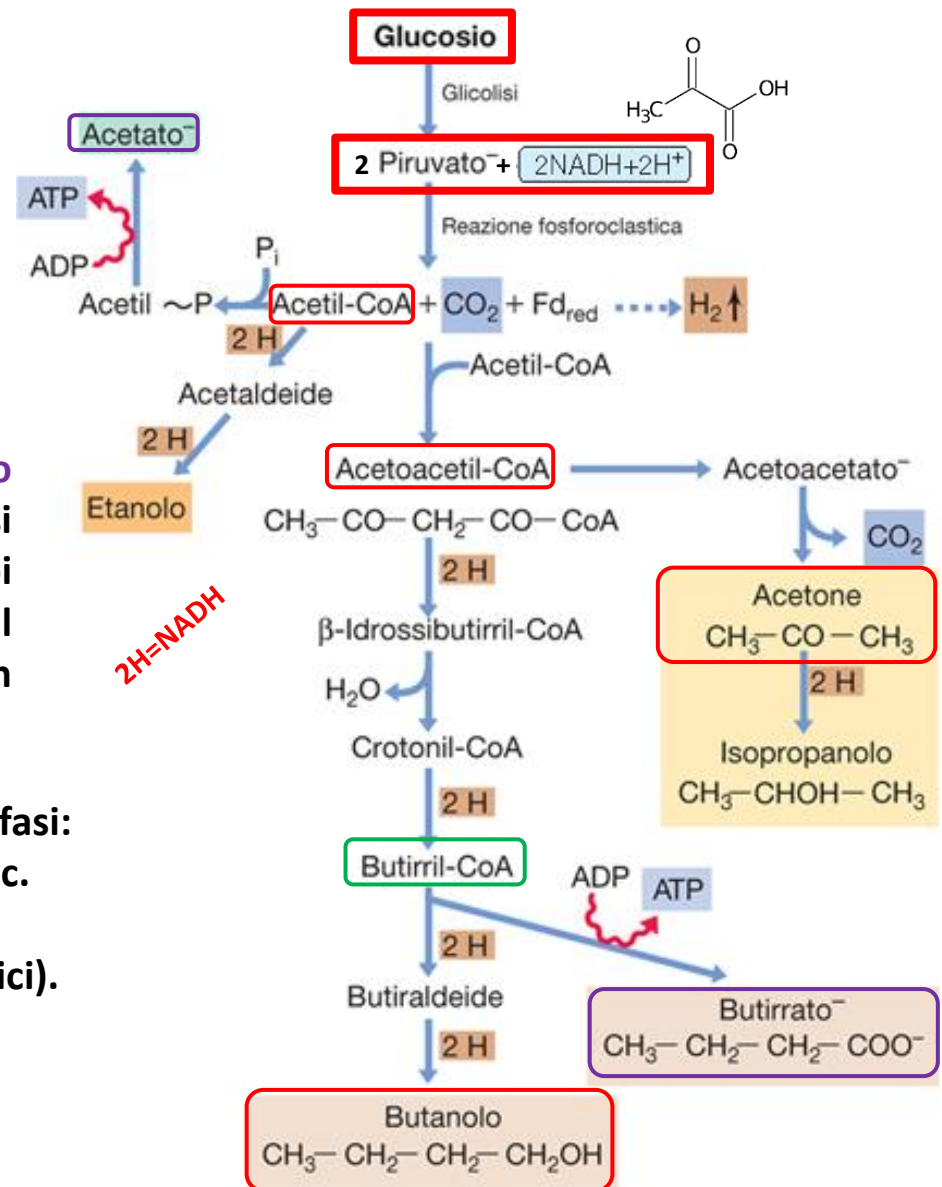
Scissione dell'acido piruvico con formazione diretta di acetil-CoA, H_2 e CO_2 .

Parte dell'acetil-CoA viene trasformata in acido acetico (con formazione di **ATP**), mentre parte si condensa ad acetoacetil-CoA che viene poi ridotto a butiril-CoA. Successivamente, dal butiril-CoA si forma acido butirrico (con produzione di **ATP**) o butanolo.

Durante la crescita possono essere osservate due fasi:

- Fase acetogena (con prevalente produzione di ac. acetico ed ac. butirrico)
- Fase solventogena (produzione solventi organici).

Oltre all'**ATP** prodotto durante la glicolisi, si aggiunge altro **ATP** derivante dalla **produzione di acetato e butirrato**.



Fermentazione butirrica-isopropilica

Prodotti finali: acido butirrico, acido acetico, isopropanolo, acetone, butanolo, etanolo, CO_2 , H_2 .

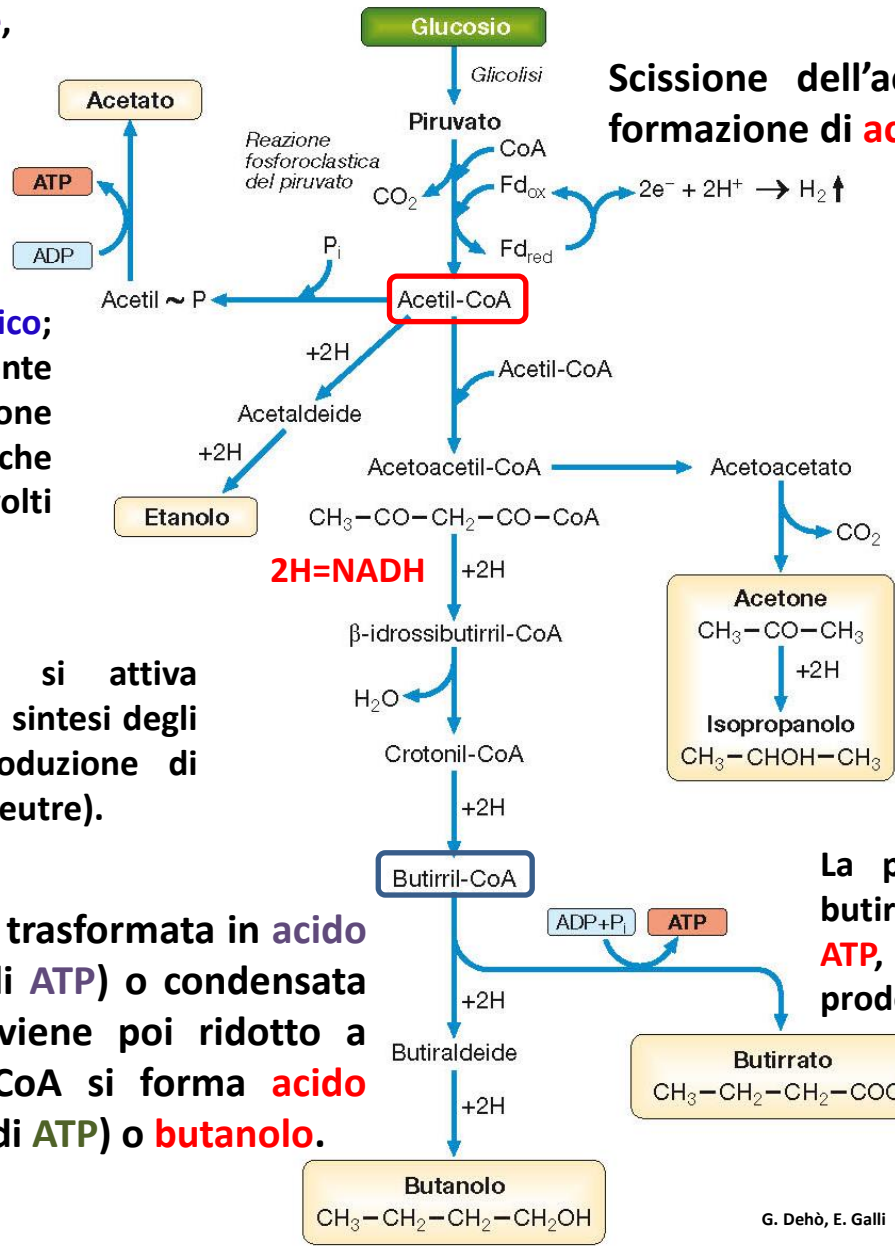
Fase acetogena

Prevalente produzione di **ac. acetico** ed **ac. butirrico**; l'acidificazione dell'ambiente induce una inibizione dell'espressione dei geni che codificano gli enzimi coinvolti in questa fase.

Fase solventogena

Quando il pH scende, si attiva l'espressione dei geni per la sintesi degli enzimi coinvolti nella produzione di solventi organici (sostanze neutre).

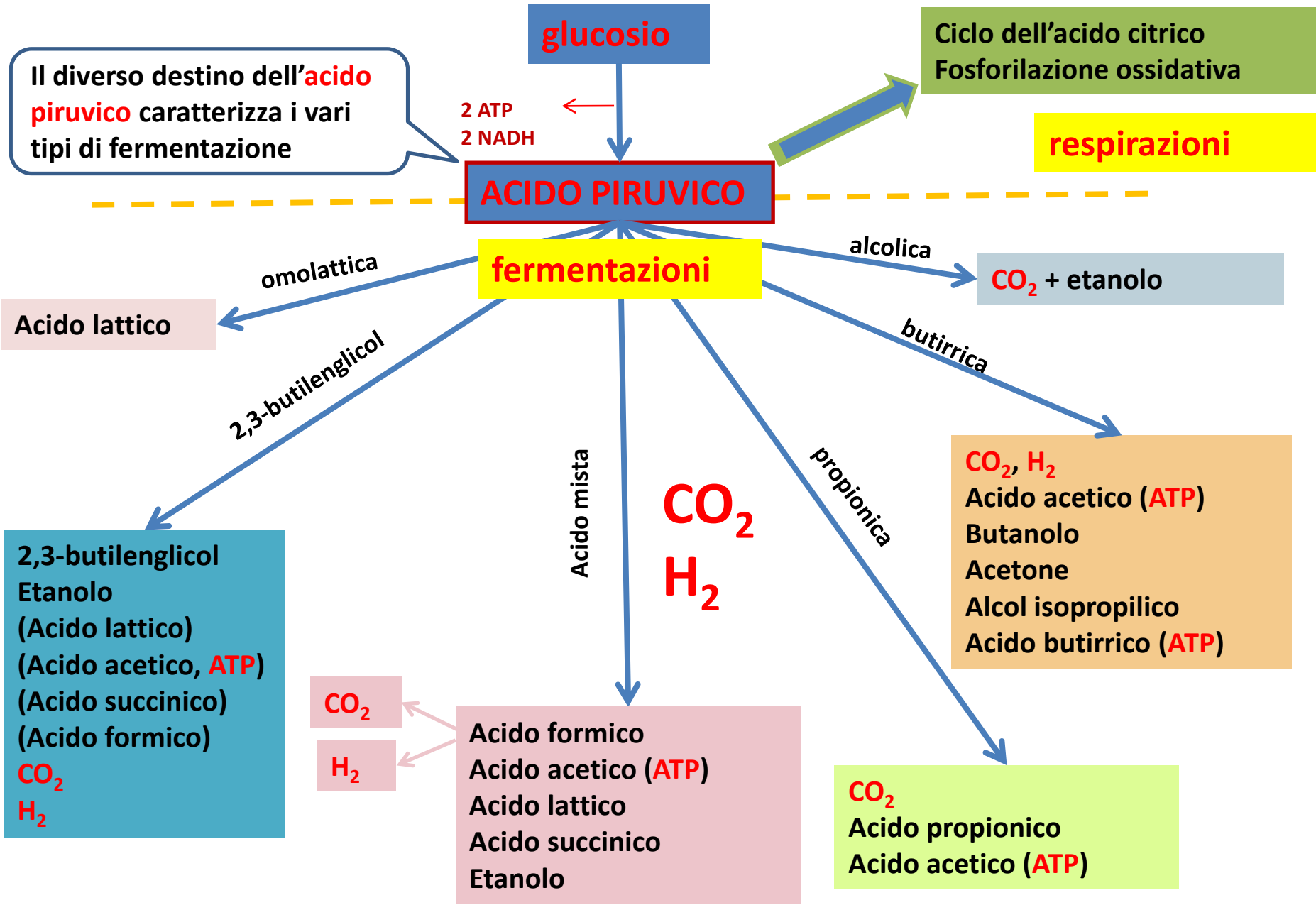
Parte dell'**acetil-CoA** viene trasformata in **acido acetico** (con formazione di **ATP**) o condensata ad **acetoacetil-CoA**, che viene poi ridotto a butirril-CoA. Dal butirril-CoA si forma **acido butirrico** (con produzione di **ATP**) o **butanolo**.



Scissione dell'acido piruvico con formazione di **acetil-CoA**, H_2 e CO_2 .

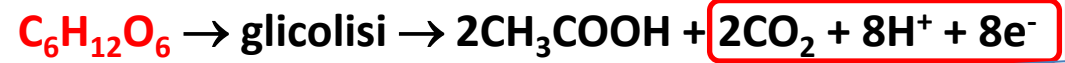
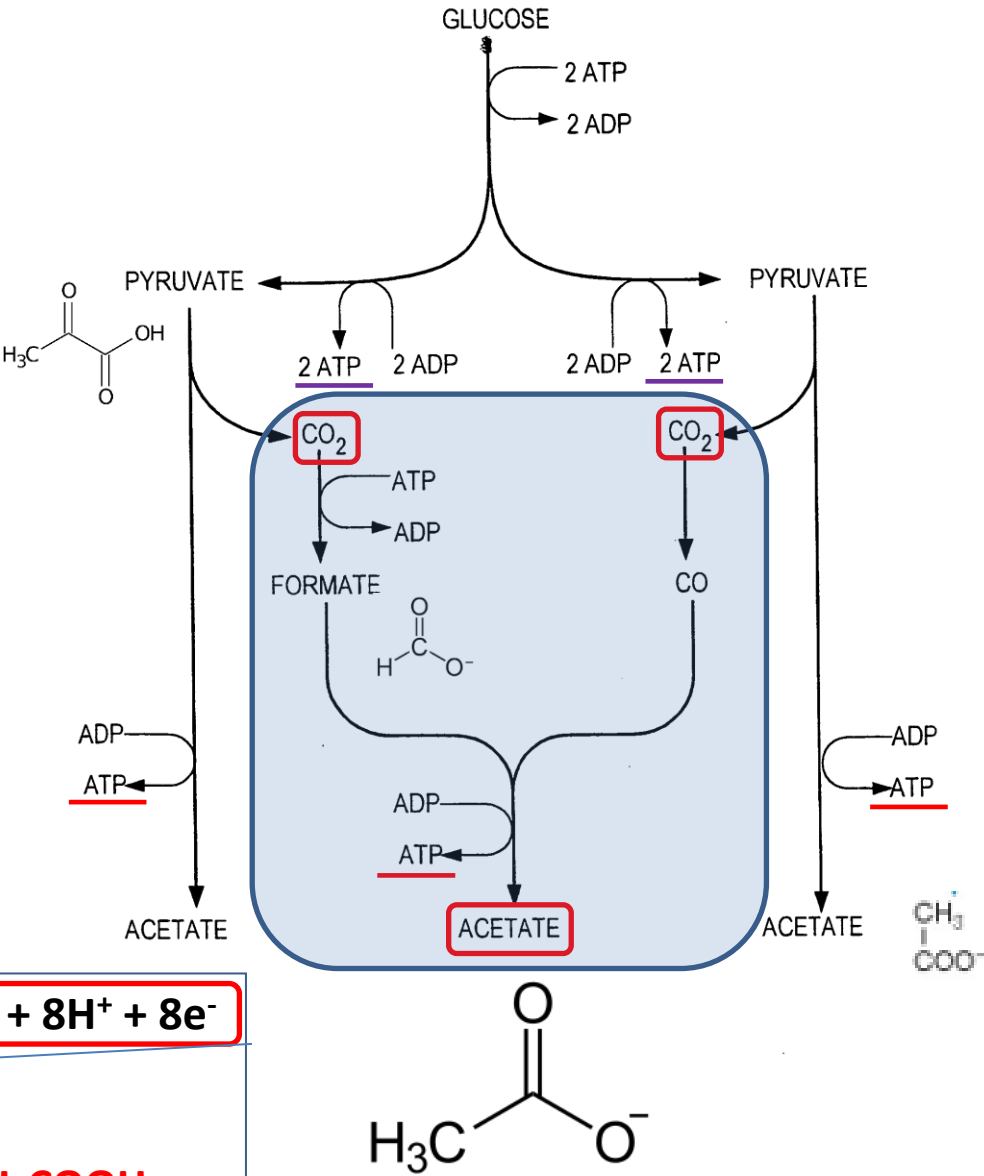
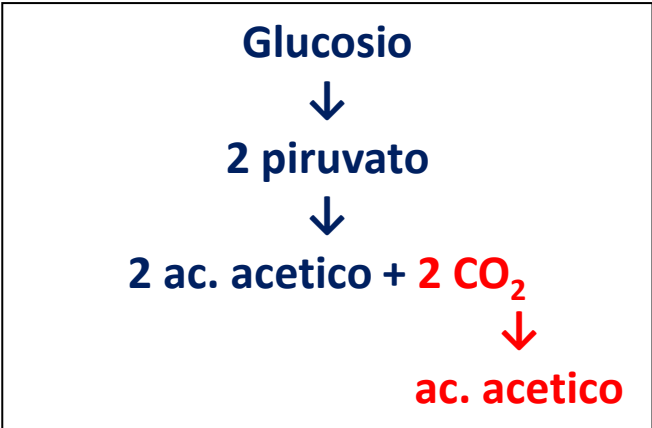
Parte dell'**acetil-CoA**, attraverso l'acetoacetil-CoA, viene trasformato ad **acetone** che può, poi, essere convertito ad **isopropanolo**

La produzione di acetato e butirrato porta alla sintesi di **ATP**, che si aggiunge a quello prodotto dalla glicolisi.

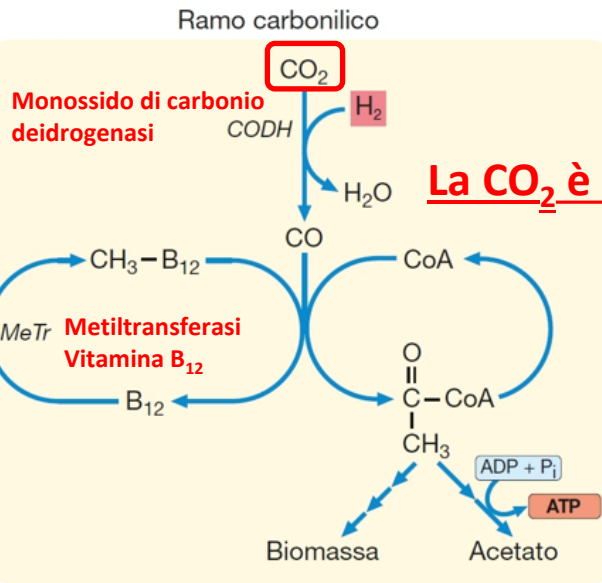
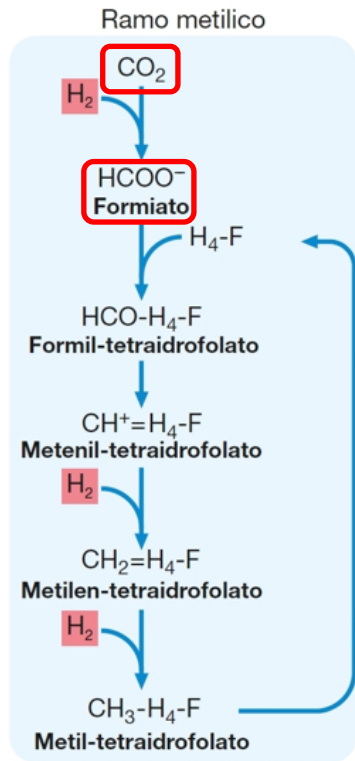


FERMENTAZIONE OMOACETICA e VIA dell'ACETIL-COA o via di Ljungdahl-Wood

Clostridium thermoaceticum ed altri omoacetogeni → fermentazione omoacetica del glucosio

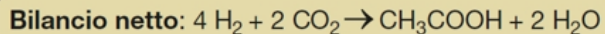


Fermentazione omoacetica e via dell'acetil-CoA (o via di Ljungdahl-Wood)



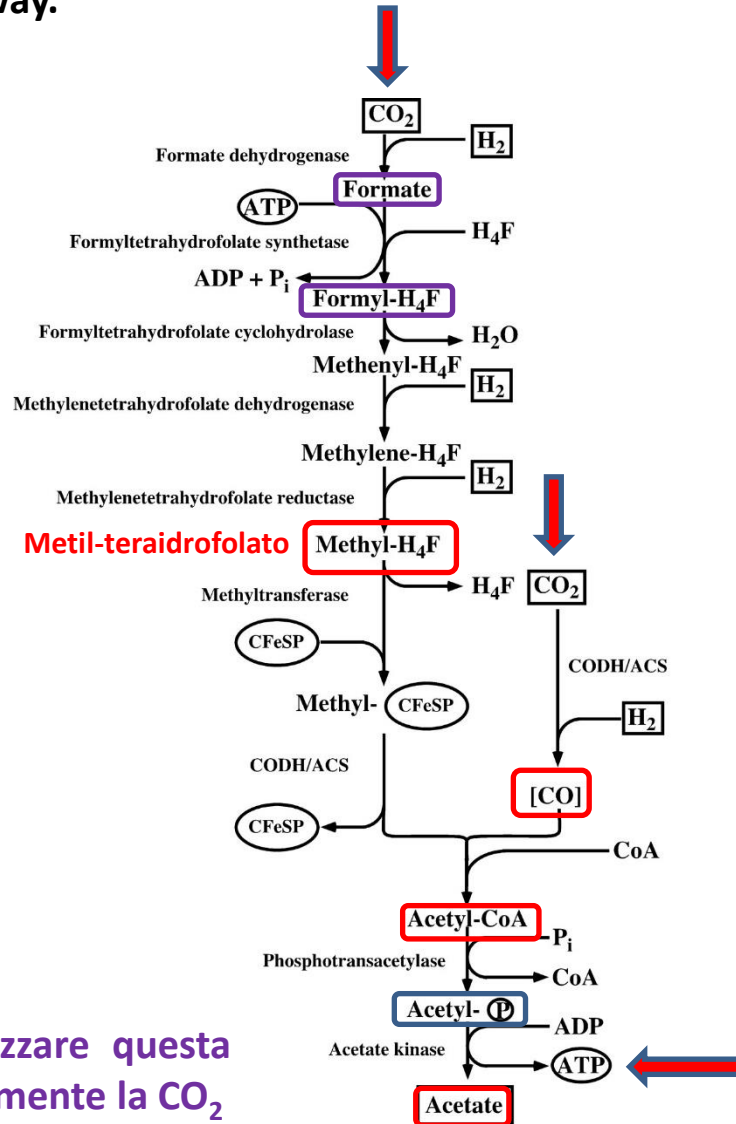
La CO₂ è ridotta a gruppo metilico

La riduzione della CO₂ ad acetato, che porta alla formazione di **ATP** a due livelli (attraverso l'**acetil-P** e dalla formazione di un **gradiente di Na⁺** o di **H⁺**), è una via condivisa con altri batteri (*Archaea* metanogeni e solfato riduttori).



Wood-Ljungdahl pathway.

La CO₂ è ridotta a gruppo metilico



Metil-teraidrofolato

La CO₂ è ridotta a gruppo carbonilico

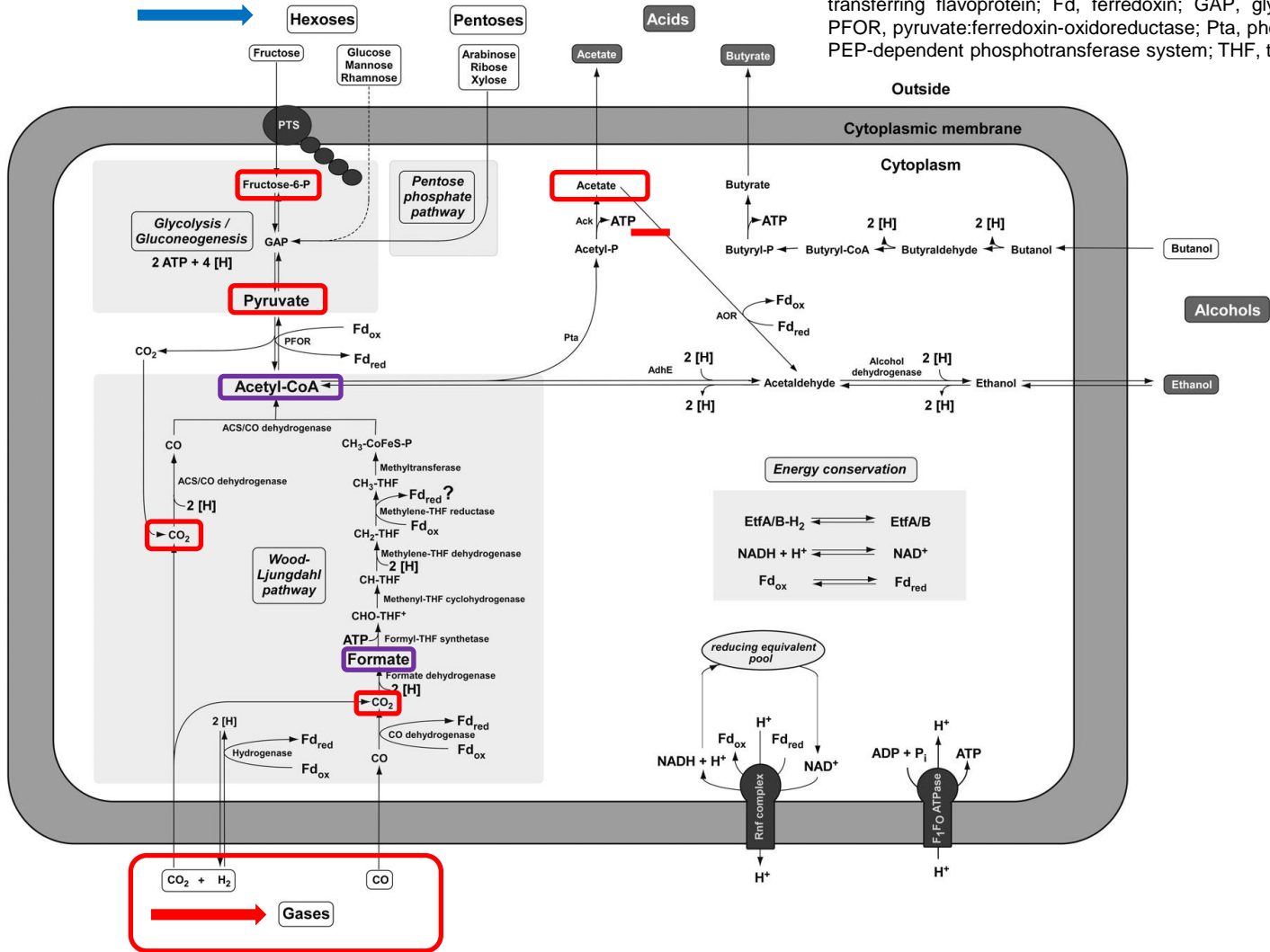
Gli omoacetogeni possono utilizzare questa via anche per fissare autotroficamente la CO₂

Müller V Appl. Environ. Microbiol. 2003;69:6345-6353

Applied and Environmental Microbiology

Scheme of basic metabolic pathways and energy conservation in *C. ljungdahlii* when growing heterotrophically on sugars (hexoses or pentoses) or autotrophically on gases (CO or CO₂ + H₂).

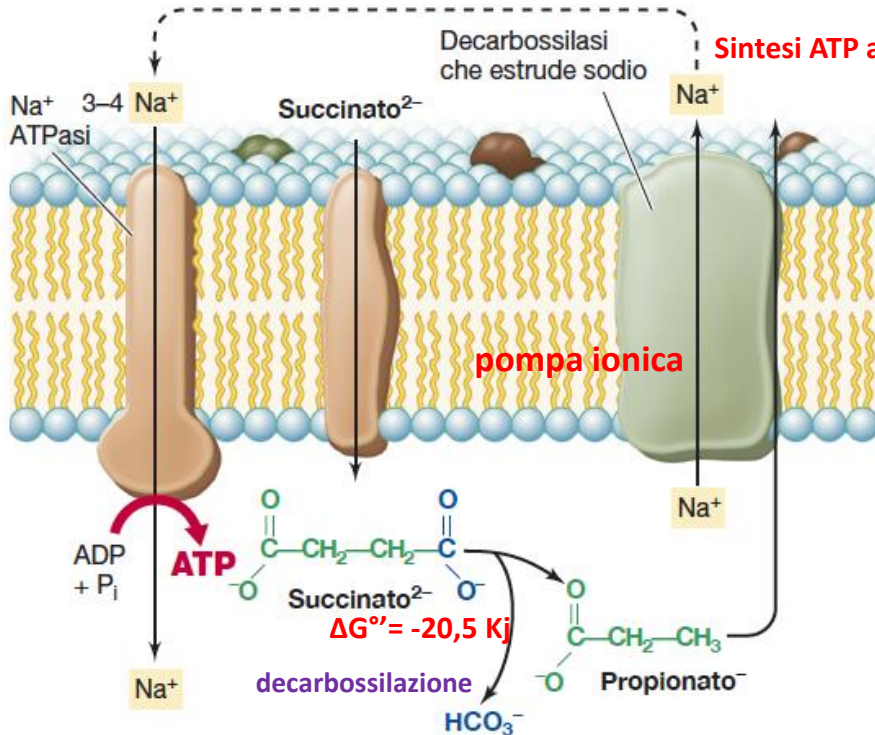
Glycolysis and pentose phosphate pathway for heterotrophic growth are underlaid in gray as well as the Wood-Ljungdahl pathway for autotrophic growth. The white boxes represent substrates and the dark gray boxes with white letters represent products. Single reactions do not represent stoichiometric fermentation balances. Ack, acetate kinase; ACS, acetyl-CoA synthase; AdhE, butyraldehyde/butanol dehydrogenase E; AOR, aldehyde oxidoreductase; Co-FeS-P, corrinoid iron-sulfur protein; Etf, electron-transferring flavoprotein; Fd, ferredoxin; GAP, glyceraldehyde-3-phosphate; PFOR, pyruvate:ferredoxin-oxidoreductase; Pta, phosphotransacetylase; PTS, PEP-dependent phosphotransferase system; THF, tetrahydrofolate.



Köpke M et al. PNAS 2010;107:13087-13092

Fermentazioni con produzione di ATP attraverso fosforilazione ossidativa pur se in assenza di trasporto degli e⁻ (fermentazioni di decarbossilazione)

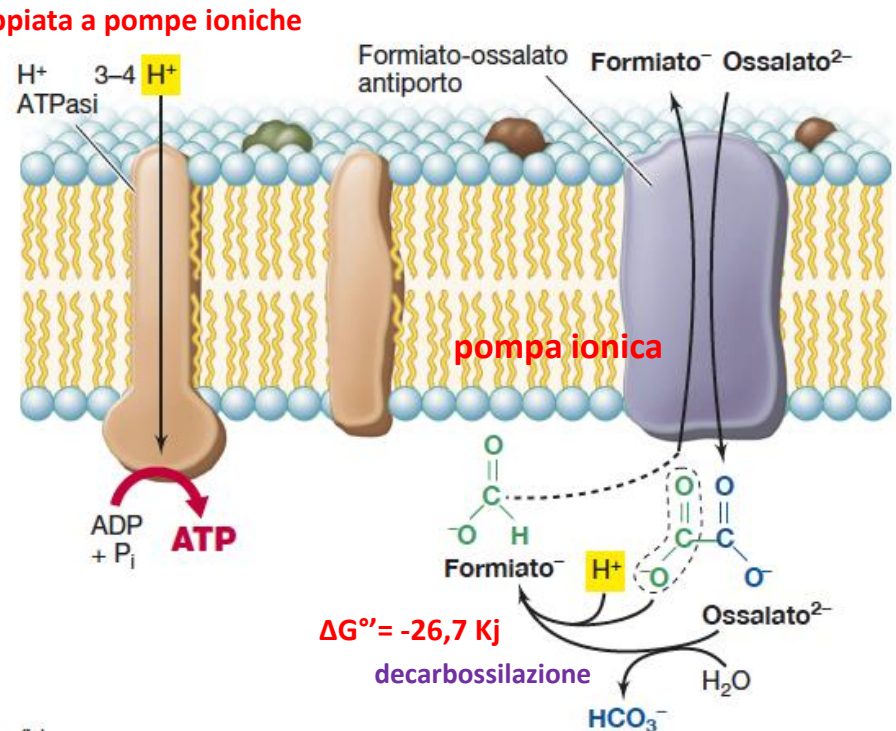
L'ATP viene sintetizzato in seguito alla generazione di una **forza sodio-motrice**



(a)

Figura 16.8 Fermentazioni del succinato e dell'ossalato. (a) La fermentazione del succinato in *Propionigenium modestum*. L'escrezione del sodio è collegata all'energia rilasciata

L'ATP viene sintetizzato in seguito alla generazione di un **forza proton-motrice**



(b)

dalla decarbossilazione del succinato e l'ATP è prodotto da un'ATPasi sodio-dipendente. (b) La fermentazione dell'ossalato in *Oxalobacter formigenes*. L'ingresso dell'ossalato e la secrezione

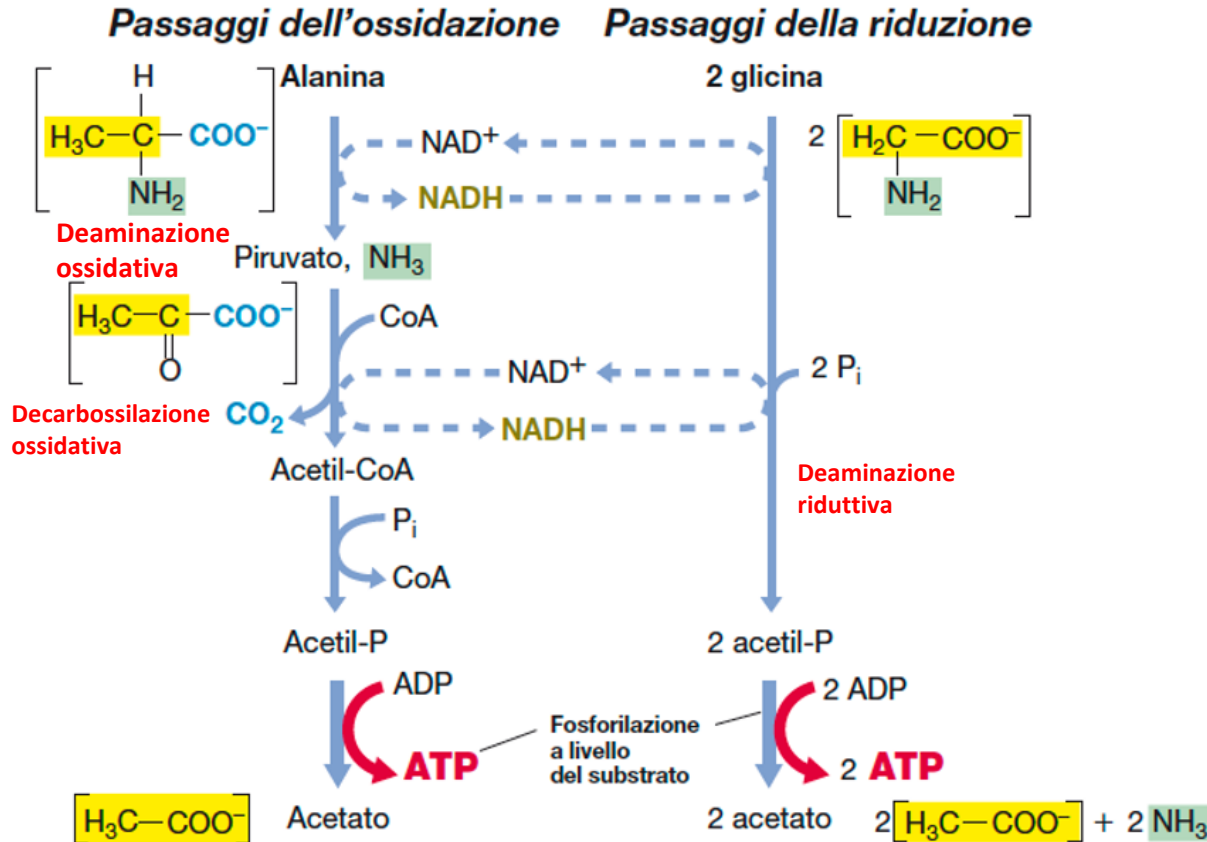
del formiato avvengono mediante un meccanismo di antiporto con consumo di protoni. L'ATP viene prodotto da un'ATPasi a pompa protonica. Tutti i substrati e i prodotti sono evidenziati con colori diversi.

Fermentazione degli aminoacidi (reazione di Stickland)

- Alcuni batteri fermentano specifiche **coppie di aa**.
- Ossidazione accoppiata di **due aa** (uno donatore, l'altro accettore di elettroni).
 - Prodotti: **ac. carbossilico** (con un C in meno rispetto all'aa ossidato), **NH₃** e **CO₂**.

In assenza di carboidrati, i clostridi (proteolitici) possono crescere decomponendo, attraverso la fermentazione, gli aminoacidi.
(putrefazione → decomposizione anaerobica)

Sostanze volatili maleodoranti
(H₂S, metilmercaptano, acidi grassi, cadaverina, ammoniaca, ...)



| Aminoacidi utilizzati in fermentazioni accoppiate (reazioni di Stickland) | |
|---|----------------------------|
| Aminoacidi ossidati: | Aminoacidi ridotti: |
| Alanina | Glicina |
| Leucina | Prolina |
| Isoleucina | Idrossiprolina |
| Valina | Triptofano |
| Istidina | Arginina |

Specie di *Clostridium* (proteolitici)

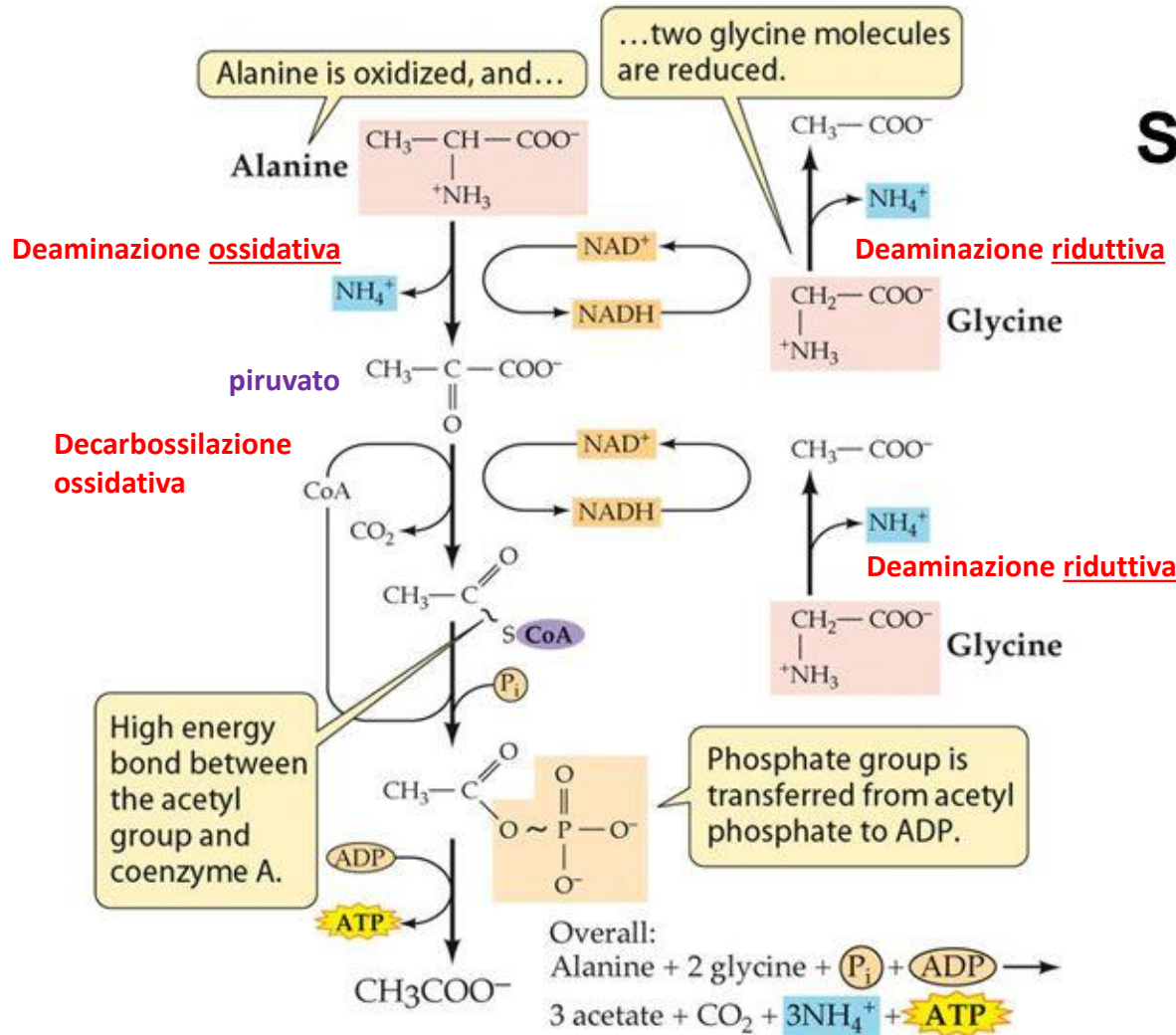
C. sticklandii

C. botulinum

C. Sporogenes

...

Stickland reaction



3 ATP

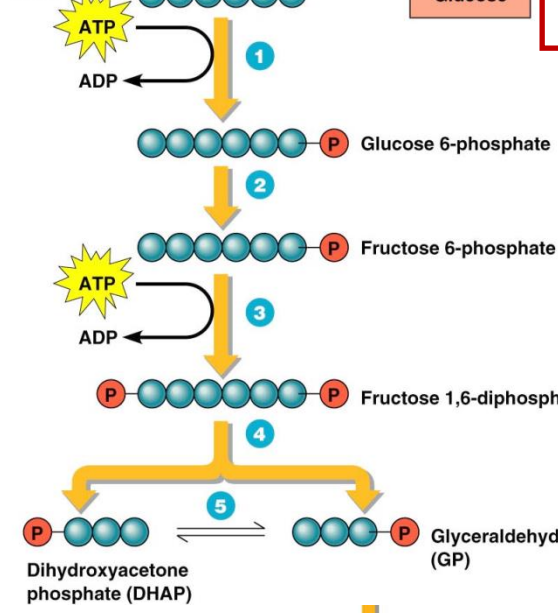
Se si considerano anche le altre 2 molecole di ATP che si generano dall'acetil~P derivante dalla riduzione della glicina.

Perchè sono importanti le fermentazioni?

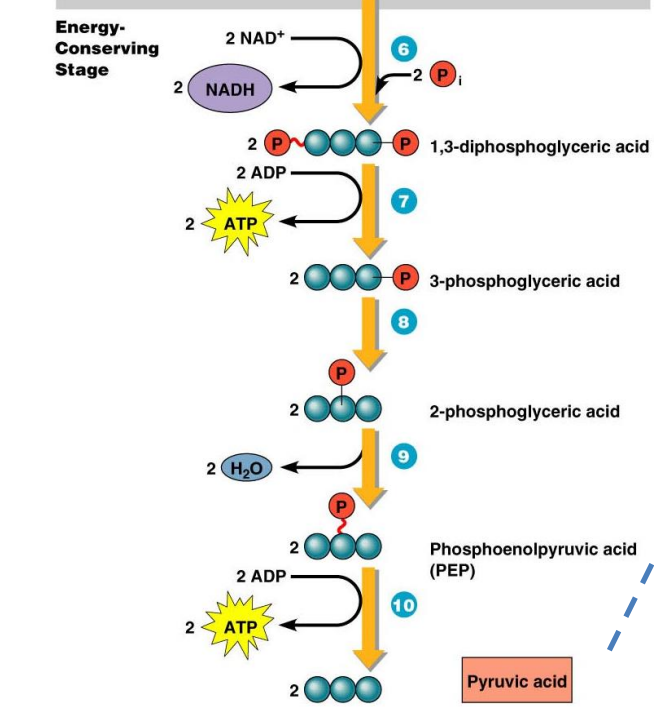
- I batteri fermentanti possono crescere altrettanto velocemente come quelli che usano la respirazione aerobica **umentando la velocità delle reazioni (glicolisi, ...)**.
- La fermentazione consente una **rapida utilizzazione degli zuccheri fermentabili (glucosio, fruttosio)** in condizioni anaerobiche.
- La fermentazione permette l'**indipendenza dall'ossigeno molecolare** e consente la colonizzazione di ambienti anaerobici.
- Avviene un **rapido riciclo dei trasportatori di elettroni (NAD⁺)**.
- Si ottengono diversi **prodotti finali di interesse anche industriale**: alcoli, acidi organici, solventi, etc.

Glicolisi (via di Embeden-Meyerhof)

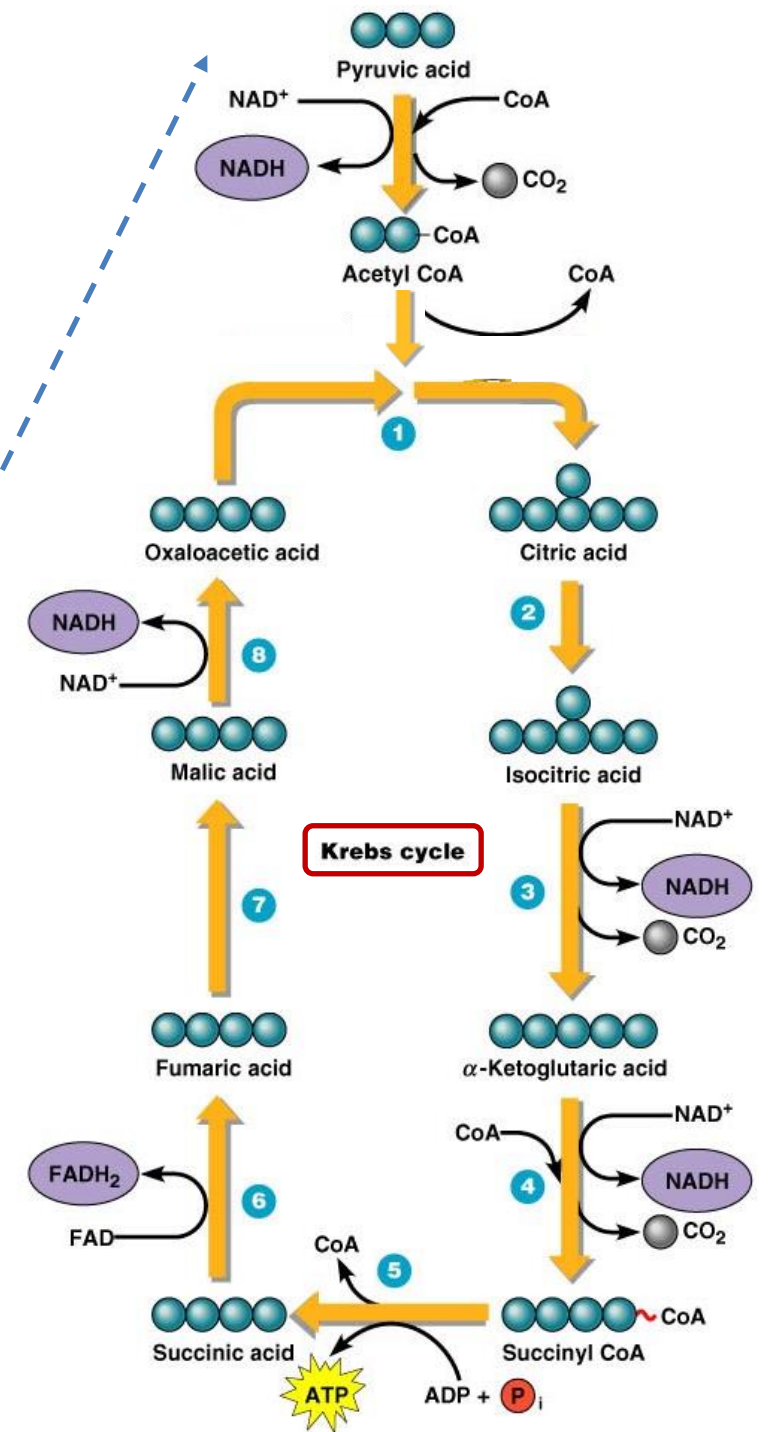
Preparatory Stage



Fosforilazione a livello del substrato



Pyruvic acid



Krebs cycle

